

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

Date of mailing:

08 March 2001 (08.03.01)

International application No.:

PCT/JP00/05683

Applicant's or agent's file reference:

2632WO0P

International filing date:

24 August 2000 (24.08.00)

Priority date:

27 August 1999 (27.08.99)

Applicant:

WATANABE, Takuya et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

29 September 2000 (29.09.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38



PATENT COOPERATION TREATY

担当者	G・M	Pat・M	部長
-----	-----	-------	----

PCT/JP00/05683

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku
Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 19 September 2000 (19.09.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2632WO0P	International application No. PCT/JP00/05683

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. (for all designated States except US)
WATANABE, Takuya et al (for US)

International filing date : 24 August 2000 (24.08.00)
Priority date(s) claimed : 27 August 1999 (27.08.99)
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 12 September 2000 (12.09.00)
List of designated Offices :

AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW
EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National : AE, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI,
SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
☒ confirmation of precautionary designations
☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer:

Shinji IGARASHI

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Telephone No. (41-22) 338.83.38

Form PCT/IB/301 (July 1998)

003531548

INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is **20 MONTHS** from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, **30 MONTHS** from the priority date, provided that the election is made before the expiration of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. It is the applicant's responsibility to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

GR and ES became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, and may, therefore, be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, regardless of the filing date of the international application. (See second paragraph above.)

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before that date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau or if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.



PATENT COOPERATION TREATY

12

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING SUBMISSION OR TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku
Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 06 November 2000 (06.11.00)	
Applicant's or agent's file reference 2632WO0P	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/05683	International filing date (day/month/year) 24 August 2000 (24.08.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 27 August 1999 (27.08.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
27 Augu 1999 (27.08.99)	11/241529	JP	13 Octo 2000 (13.10.00)



The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35 Form PCT/IB/304 (July 1998)	Authorized officer <div style="text-align: right; padding-right: 20px;">Magda BOUACHA</div> <div style="text-align: right; padding-right: 20px;"> </div> Telephone No. (41-22) 338.83.38
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

003637054



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku
Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

受付

01.3.21

知的財産部

Date of mailing (day/month/year) 08 March 2001 (08.03.01)		
Applicant's or agent's file reference 2632WO0P		
IMPORTANT INFORMATION		
International application No. PCT/JP00/05683	International filing date (day/month/year) 24 August 2000 (24.08.00)	Priority date (day/month/year) 27 August 1999 (27.08.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

- The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:
AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW
EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE
National : AU, BG, CA, CN, CZ, IL, JP, KR, MN, NO, NZ, PL, RO, RU, SK, US
- The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:
EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National : AE, AG, AL, AM, AZ, BA, BB, BR, BY, BZ, CR, CU, DM, DZ, EE, GE, GR, HR, HU, ID, IN, IS, KG, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MX, MZ, SG, SI, TJ, TM, TR, TT, UA, UZ, VN, YU, ZA
- The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------

Form PCT/IB/332 (September 1997)

3871353

担当者	G・M		部長

PATENT COOPERATION TREATY

WO 01/16179
PCT/JP00/05683

16

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

TAKAHASHI, Shuichi_
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku
Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON



Date of mailing (day/month/year)
08 March 2001 (08.03.01)

Applicant's or agent's file reference
2632WO0P

IMPORTANT NOTICE

International application No.
PCT/JP00/05683

International filing date (day/month/year)
24 August 2000 (24.08.00)

Priority date (day/month/year)
27 August 1999 (27.08.99)

Applicant

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
AU, KR, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
AE, AG, AL, AM, AP, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EA, EE, EP, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, OA, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UZ, VN, YU, ZA
The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 08 March 2001 (08.03.01) under No. WO 01/16179

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

J. Zahra

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Telephone No. (41-22) 338.83.38

Form PCT/IB/308 (July 1996)

3871353

P C T

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 2632WOOP	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05683	国際出願日 (日.月.年) 24.08.00	優先日 (日.月.年) 27.08.99
出願人(氏名又は名称) 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 6 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (P C T 1 7 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 1 2, 1 3 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
明細書には、請求の範囲 1 2, 1 3 の「化合物またはその塩」について、その第 5 3 ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単に G 蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかは何ら記載されて
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6. 4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



第Ⅲ欄 要約（第1ページの5の続き）

本発明は、ヒト脳由来の蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）またはその塩、該蛋白質をコードするDNA、該蛋白質に対するリガンドの決定方法、リガンドと該蛋白質との結合性を変化させる化合物（アゴニスト、アンタゴニストなど）のスクリーニング方法／スクリーニング用キット、該スクリーニングで得られる化合物またはその塩などに関する。

本発明のヒト脳由来の蛋白質またはそれをコードするDNAは、本発明の蛋白質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤などに用いることができる。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/12, 15/12, C12P21/02,
A61K45/00, G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K14/00-14/825, C12N15/11-15/62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	WO, 00/22131, A2 (ARENA PHARMACEUTICALS, INC.) 20.4月.2000 (20.04.00) & AU, 9962991, A	1-11, 14
X	GenBank Accession No. AI083852, "qf23d12.x1 NCI_CGAP_Brn25 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:1750871 3' similar to contains PTR5.b2 TAR1 repetitive element ;, mRNA sequence." February 13, 1999, NCI/NINDS-CGAP http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncicgap .	14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.12.00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生

4N

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3488



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	DE, 19805351, A1 (BASF AG) 12.8月.1999 (12.08.99) & EP, 943685, A2 & JP, 11-318452, A	1-11, 14
A	EP, 845529, A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 3.6月.1998 (03.06.98) & JP, 10-127289, A & US, 6048711, A	1-11, 14
A	DONOHUE, Patrick J. et al., "A human gene encodes a putative G protein-coupled receptor highly expressed in the central nervous system", Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54, Number 1, pages 152-160	1-11, 14
A	MARAZZITI, Daniela et al., "Cloning of GRP37, a Gene Located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library", Genomics, October 1, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77	1-11, 14
A	O'DOWD, Brian F. et al., "Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes", Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81	1-11, 14



第 I 欄 2. の続き

いない。また、スクリーニングにかける試験化合物についても、「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第 52 ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲 12 では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲 12 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 13 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であって、請求の範囲 12, 13 の記載は著しく不明確である。したがって、請求の範囲 12, 13 に記載の発明については、有効な国際調査をすることができない。



特許協力条約に基づく国際出願
国際予備審査請求書

第 II 章

出願人は、次の国際出願が特許協力条約に従って国際予備審査の対象とされることを請求し、
選択資格のある全ての国を選択する。ただし、特段の表示がある場合を除く。

国際予備審査機関記入欄

国際予備審査機関の確認	請求書の受理の日
-------------	----------

第 I 欄 国際出願の表示	出願人又は代理人の書類記号 2632WO0P
---------------	------------------------

国際出願番号 PCT/JP00/05683	国際出願日 (日. 月. 年) 24.08.00	優先日 (最先のもの) (日. 月. 年) 27.08.99
--------------------------	-----------------------------	-----------------------------------

発明の名称 新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

II 欄 出願人	
氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載) 武田薬品工業株式会社 TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. 〒541-0045 日本国大阪府大阪市中心区道修町四丁目1番1号 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA 541-0045 JAPAN	電話番号: ファクシミリ番号: 加入電話番号:

国籍 (国名): 日本国 Japan	住所 (国名): 日本国 Japan
--------------------	--------------------

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載) 渡辺卓也 WATANABE Takuya 〒532-0033 日本国大阪府大阪市淀川区新高6丁目14番9-B904号 14-9-B904, Niitaka 6-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, OSAKA 532-0033 JAPAN

国籍 (国名): 日本国 Japan	住所 (国名): 日本国 Japan
--------------------	--------------------

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載) 菊地久仁子 KIKUCHI Kuniko 〒302-0024 日本国茨城県取手市新町5丁目8-18-101号 8-18-101, Shinmachi 5-chome, Toride-shi, IBARAKI 302-0024 JAPAN

国籍 (国名): 日本国 Japan	住所 (国名): 日本国 Japan
--------------------	--------------------

<input checked="" type="checkbox"/> その他の出願人が続葉に記載されている。



第 II 欄の続き 出願人

この第 II 欄の続きを使用しない時は、この用紙を国際予備審査請求書に含めないこと。

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

新谷靖 SHINTANI Yasushi
〒305-0821 日本国茨城県つくば市春日1丁目7番地9-703号
7-9-703, Kasuga 1-chome, Tsukuba-shi, IBARAKI 305-0821 JAPAN

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

国籍 (国名):

住所 (国名):

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

国籍 (国名):

住所 (国名):

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

国籍 (国名):

住所 (国名):

☐ その他の出願人が他の続葉に記載されている。



第Ⅲ欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

下記に記載された者は、☒ 代理人 又は ☐ 共通の代表者 として☒ 既に選任された者であって、国際予備審査についても出願人を代理する者である。☐ 今回新たに選任された者である。先に選任されていた代理人又は共通の代表者は解任された。☐ 既に選任された代理人又は共通の代表者に加えて、特に国際予備審査機関に対する手続きのために、今回新たに選任された者である。

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

11404 弁理士 高橋 秀一 TAKAHASHI Shuichi

11045 弁理士 内山 務 UCHIYAMA Tsutomu

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of Takeda Chemical Industries, Ltd.

17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, OSAKA

532-0024 JAPAN

電話番号：

03-3278-2235

ファクシミリ番号：

03-3278-2222

加入電話番号：

☐ 通知のためのあて名：代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅳ欄 国際予備審査に対する基本事項

補正に関する記述：*

1. 出願人は、次のものを基礎として国際予備審査を開始することを希望する。

☒ 出願時の国際出願を基礎とすること。☐ 明細書に関して☐ 出願時のものを基礎とすること。☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。☐ 請求の範囲に関して☐ 出願時のものを基礎とすること。☐ 特許協力条約第19条の規定に基づいてなされた補正（添付した説明書も含む）を基礎とすること。☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。☐ 図面に関して☐ 出願時のものを基礎とすること。☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。2 ☐ 出願人は、特許協力条約第19条の規定に基づく請求の範囲に関する補正を差し替えることによって考慮されることを望む。3 ☐ 出願人は、国際予備審査の開始が優先日から20月経過まで延期されることを望む（ただし、国際予備審査機関が、特許協力条約第19条の規定に基づき行われた補正書の写しの受領、又は当該補正を希望しない旨の出願人からの通知を受領した場合を除く（規則69.1(d)）。
（この口は、特許協力条約第19条の規定に基づく期間が満了していない場合にのみ、レ印を付すことができる。）

* 記入がない場合は、1)補正がないか又は国際予備審査機関が補正（原本又は写し）を受領していないときは、出願時の国際出願を基礎に予備審査が開始され、2)国際予備審査機関が、見解書又は予備審査報告書の作成開始前に補正（原本又は写し）を受領したときは、これらの補正を考慮して予備審査が開始又は続行される。

国際予備審査を行うための言語は 日 本 語 であり、

☒ 国際出願提出時の言語である。☐ 国際調査のために提出した翻訳文の言語である。☐ 国際出願の公開の言語である。☐ 国際予備審査の目的のために提出した翻訳文の言語である。

第Ⅴ欄 国の選択

出願人は、選択資格のある全ての指定国（即ち、既に出願人によって指定されており、かつ特許協力条約第Ⅱ章に拘束されている国）を選択する。

ただし、出願人は次の国の選択を希望しない。：



第VI欄 照合欄

この国際予備審査請求書には、国際予備審査のために、第IVに記載する言語による書類が添付されている。

国際予備審査機関記入欄

1. 国際出願の翻訳文 枚
2. 特許協力条約第34条の規定に基づく補正書 枚
3. 特許協力条約第19条の規定に基づく補正書
(又は、要求された場合は翻訳文) の写し 枚
4. 特許協力条約第19条の規定に基づく説明書
(又は、要求された場合は翻訳文) の写し 枚
5. 書簡 枚
6. その他(書類名を具体的に記載する): 枚

受領

未受領

☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

この国際予備審査請求書には、さらに下記の書類が添付されている。

- ☒ 手数料計算用紙
- ☒ 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
- ☒ 国際事務局の口座への振込を証明する書面
- 2 ☐ 別個の記名押印された委任状
3. ☐ 包括委任状の写し
4. ☐ 記名押印(署名)に関する説明書
5. ☐ スクレオチド又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク)
6. ☐ その他(書類名を具体的に記載する):

第VII欄 提出者の記名押印

各人の氏名(名称)記載し、その次に押印する。

高橋 秀一



内山 務



1. 国際予備審査請求書の実際の受理の日 ———— 国際予備審査機関記入欄

2. 規則60.1(b)の規定による国際予備審査請求書の受理の日の訂正後の日付

3. ☐ 優先日から19月を経過後の国際予備審査請求書の受理。ただし、以下の4、5の項目にはあてはまらない。☐ 出願人に通知した。4. ☐ 規則80.5により延長が認められている優先日から19月の期間内の国際予備審査請求書の受理5. ☐ 優先日から19月を経過後の国際予備審査請求書の受理であるが規則82により認められる。

——— 国際事務局記入欄 ———

国際予備審査請求書の国際予備審査機関からの受領の日:



P C T

手 数 料 計 算 用 紙

国際予備審査請求書の附属書

国際予備審査機関記入欄

国際出願番号

PCT/JP00/05683

出願人又は代理人の書類記号

2632WO0P

国際予備審査機関の日付印

出願人

武田薬品工業株式会社

所定の手数料の計算

1. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律(国内法)
第18条第1項第4号の規定による手数料
(予備審査請求料) (注1)

28,000 円

P

2. 取扱手数料 (注2)

14,600 円

H

3. 所定の手数料の合計

P及びHに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入...

42,600 円

合 計

(注1) 法第18条第1項第4号の規定による手数料については、特許印紙をもって納付しなければならない。

(注2) 取扱手数料については、国際予備審査機関である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振り込みを証明する書面を提出することにより納付しなければならない。



発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人
高橋 秀一
殿
あて名
〒532-0024
大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社知的財産部

P C T

国際予備審査請求書受付
の受理通知書

00.10.19

知的財産部

（法施行規則第54条第1項）

〔PCT規則59.3(e)及び61.1(b)第1文、
実施細則601(a)〕

PCT/JP00/05683

PE402

発送日（日・月・年）

17.10.00

出願人又は代理人 の書類記号	2632WO0P	重 要 な 通 知	
国際出願番号	PCT/JP00/05683	国際出願日（日・月・年）	優先日（日・月・年）
		24.08.00	27.08.99
出願人（氏名又は名称） 武田薬品工業株式会社			

1. 国際予備審査機関は、国際出願の国際予備審査請求書を次の日に受理したことを通知する。

29 日 09 月 00 年

2. この受理の日は次に示す日である。

- ☒ 管轄する国際予備審査機関が国際予備審査請求書を受理した日
（PCT規則61.1(b)）
- ☐ 管轄する国際予備審査機関に代わって国際予備審査請求書を受理した日
（PCT規則59.3(e)）
- ☐ 国際予備審査請求書の手続き補完書を管轄する国際予備審査機関が受理した日

3. ☐ 受理の日は、優先日から19箇月が経過している。

（注意） 国際予備審査請求書に記載した選択国の国内段階開始時期の優先日から30箇月まで（遅い官庁がある）の効果はない。（PCT第39条（1））したがって、国内段階移行の手続きは、優先日から20箇月以内（遅い官庁がある）に行わなければならない。（PCT第22条）
詳細については、PCT出願人の手引き・第II巻」を参照すること。

☐ この内容は、口頭又は電話により次の日に行った連絡を確認するためのものである。

4. 上記の3に該当する場合に、この通知書の写しは国際事務局に送付した。

名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/JP） 郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308 日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 様式PCT/IPEA/402（1998年7月）	権限のある職員 特 許 庁 長 官
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------



特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁 (国際予備審査機関)

特 許 協 力 条 約	G・M	Pat・M	部 長
5/24	5/24		

出願人代理人

高 橋 秀 一

殿

あて名

〒 532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

(法施行規則第57条)

(PCT規則71.1)

発送日
(日.月.年)

17.07.01

出願人又は代理人
の書類記号

2632WOOP

重要な通知

国際出願番号

PCT/JPO0/05683

国際出願日

(日.月.年) 24.08.00

優先日

(日.月.年) 27.08.99

出願人 (氏名又は名称)

武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。

3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告 (付属書類を除く) の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。

4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に (官庁によってはもっと遅く) 所定の手続 (翻訳文の提出及び国内手数料の支払い) をしなければならない (PCT39条(1)) (様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照)。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第II巻を参照すること。

名称及びあて名

日本国特許庁 (IPEA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員

特 許 庁 長 官

4B

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

様式PCT/IPEA/416 (1992年7月)

(添付用紙の注意書きを参照)



注 意

1. 文献の写しの請求について

国際予備審査報告に記載された文献であって国際調査報告に記載されていない文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することもできますが、独立行政法人工業所有権総合情報館（特許庁庁舎2階）で公報類の閲覧・複写および公報以外の文献複写等の取り扱いをしています。

〔担当及び照会先〕

〒100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目4番3号（特許庁庁舎2階）

独立行政法人工業所有権総合情報館

【公報類】 閲覧部 TEL 03-3581-1101 内線3811~2

【公報以外】 資料部 TEL 03-3581-1101 内線3831~3

また、（財）日本特許情報機構でも取り扱いをしています。

これらの引用文献の複写を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

（1）特許（実用新案・意匠）公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号（又は特許番号、登録番号）

○必要部数

（2）公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際予備審査報告の写しを添付してください（返却します）。

〔申込み及び照会先〕

〒135-0016 東京都江東区東陽4-1-7 佐藤ビル

財団法人 日本特許情報機構 情報処理部業務課

TEL 03-3508-2313

注） 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。

2. 各選択官庁に対し、国際出願の写し（既に国際事務局から送達されている場合は除く）及びその所定の翻訳文を提出し、国内手数料を支払うことが必要となります。その期限については各国ごとに異なりますので注意してください。（条約第22条、第39条及び第64条(2)(a)(i)参照）



PCT


国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 2632WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05683	国際出願日 (日.月.年) 24.08.00	優先日 (日.月.年) 27.08.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/12, 15/12, C12P21/02, A61K45/00, G01N33/53		
出願人(氏名又は名称) 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 7 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☒ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 29.09.00	国際予備審査報告を作成した日 09.07.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 内 田 俊 生 	4B 8214
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)



III. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 12, 13

理由:

☐ この国際出願又は請求の範囲 _____ は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 12, 13 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

明細書には、請求の範囲12, 13の「化合物またはその塩」について、その第53ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単にG蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにとすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかは何ら記載されていない。また、スクリーニングにかける試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第52ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲12では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

☒ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 12, 13 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 12, 13 について、国際調査報告が作成されていない。

2. スクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

- 文献1: DE 19805351 A1 (BASF AG)
12.8月.1999 (12.08.99)
- 文献2: EP 845529 A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)
3.6月.1998 (03.06.98)
- 文献3: DONOHUE, Patrick J. et al., A human gene encodes a putative G protein-coupled receptor highly expressed in the centralnervous system,
Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54, Number 1, pages 152-160
- 文献4: MARAZZITI, Daniela et al., Cloning of GRP37, a Gene Located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library,
Genomics, October 1, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77
- 文献5: O'DOWD, Brian F. et al., Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes,
Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81

請求の範囲 1-11, 14

請求の範囲 1-11, 14 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 1-5 に対して、新規性及び進歩性を有する。

文献 1-5 には、ある G 蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードする DNA が記載されているものの、本国際出願の G 蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードする DNA は、文献 1-5 に記載のものとは相異し、かつ、それらとは配列上の相同性が低いので当該技術分野の専門家にとって自明なものでもない。

なお、GenBank Accession No. AI083852 (February 13, 1999) の配列からなる DNA は、請求の範囲 14 に記載の DNA の条件を満たすものである。



VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO, 00/22131, A2 「E, X」	20.04.00	13.10.99	13.10.98

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	----------------------------------------



Ⅷ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

明細書には、請求の範囲 1 2, 1 3 の「化合物またはその塩」について、その第 5 3 ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単に G 蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにとすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかが何ら記載されていない。また、スクリーニングにかける試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第 5 2 ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲 1 2 では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲 1 2 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 1 3 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲 1 2, 1 3 の記載は著しく不明確である。また、請求の範囲 1 2, 1 3 に記載の発明については、明細書による十分な裏付けを欠いている。



補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 III 欄 1. の続き

そうすると、請求の範囲 1 2 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 1 3 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲 1 2, 1 3 の記載は著しく不明確である。したがって、請求の範囲 1 2, 1 3 に記載の発明については、見解を示すことができない。

担当官	G・M	Pat・M	部長

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人

高 橋 秀 一

殿

あて名

〒 5 3 2 - 0 0 2 4

大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

01.5.13

PCT見解書

（法第13条）
〔PCT規則66〕

受付

01.3.15

知的財産部

発送日
（日・月・年）

13.03.01

出願人又は代理人
の書類記号

2 6 3 2 W O O P

応答期間

上記発送日から 2 月以内

国際出願番号

PCT/JPO0/05683

国際出願日

（日・月・年）

24.08.00

優先日

（日・月・年）

27.08.99

国際特許分類（IPC） Int. Cl⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/12, 15/12,
C12P21/02, A61K45/00, G01N33/53

出願人（氏名又は名称）

武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

- これは、この国際予備審査機関が作成した 1 回目の見解書である。
- この見解書は、次の内容を含む。
 - ☒ 見解の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ 法第13条（PCT規則66.2(a)(ii)）に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☒ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☒ 国際出願に対する意見
- 出願人は、この見解書に応答することが求められる。
 いつ？ 上記応答期間を参照すること。この応答期間に間に合わないときは、出願人は、法第13条（PCT規則66.2(d)）に規定するとおり、その期間の経過前に国際予備審査機関に期間延長を請求することができる。ただし、期間延長が認められるのは合理的な理由があり、かつスケジュールに余裕がある場合に限られることに注意されたい。
 どのように？ 法第13条（PCT規則66.3）の規定に従い、答弁書及び必要な場合には、補正書を提出する。補正書の様式及び言語については、法施行規則第62条（PCT規則66.8及び66.9）を参照すること。
 なお 補正書を提出する追加の機会については、法施行規則第61条の2（PCT規則66.4）を参照すること。補正書及び／又は答弁書の審査官による考慮については、PCT規則66.4の2を参照すること。審査官との非公式の連絡については、PCT規則66.6を参照すること。
 応答がないときは、国際予備審査報告は、この見解書に基づき作成される。
- 国際予備審査報告作成の最終期限は、PCT規則69.2の規定により 27.12.01 である。

名称及びあて先

日本国特許庁（IPEA/JP）
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

内 田 俊 生

4 B

8 2 1 4

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

I. 見解の基礎

1. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に回答するために提出された差替え用紙は、この見解書において「出願時」とする。)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、
 明細書 第 _____ ページ、
 明細書 第 _____ ページ、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 出願時に提出されたもの
 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、
 図面 第 _____ ページ/図、
 図面 第 _____ ページ/図、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき見解書を作成した。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この見解書は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))



1. 次にに関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

- ☒ 請求の範囲 1 2, 1 3

☐ この国際出願又は請求の範囲 _____ は、国際予備審査をすることを要しない
次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

- ☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 12, 13 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

明細書には、請求の範囲 1 2, 1 3 の「化合物またはその塩」について、その第 5 3 ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単に G 蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかは何ら記載されていない。また、スクリーニングにかかる試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第 5 2 ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲 1 2 では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続

- ☒ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 12, 13 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☒ 請求の範囲 12, 13 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ナクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、見解書を作成することができない。

- ☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第13条(PCT規則66.2(a)(ii))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-11, 14

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

1-11, 14

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-11, 14

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明

文献1: DE, 19805351, A1 (BASF AG)

12.8月.1999 (12.08.99)

文献2: EP, 845529, A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)

3.6月.1998 (03.06.98)

文献3: DONOHUE, Patrick J. et al., "A human gene encodes a putative G protein-coupled receptor highly expressed in the centralnervous system",

Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54, Number 1, pages 152-160

文献4: MARAZZITI, Daniela et al., "Cloning of GRP37, a Gene Located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library",

Genomics, October 1, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77

文献5: O'DOWD, Brian F. et al., "Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes",

Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81

請求の範囲 1-11, 14

請求の範囲 1-11, 14に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献1-5に対して、新規性及び進歩性を有する。

文献1-5には、あるG蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードするDNAが記載されているものの、本国際出願のG蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードするDNAは、文献1-5に記載のものとは相異し、かつ、それらとは配列上の相同性が低いので当該技術分野の専門家にとって自明なものでもない。

なお、GenBank Accession No. AI083852 (February 13, 1999) の配列からなるDNAは、請求の範囲 14に記載のDNAの条件を満たすものである。



VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書(PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO, 00/22131, A2 「P, X」	20. 04. 00	13. 10. 99	13. 10. 98

2. 書面による開示以外の開示(PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	----------------------------------------



Ⅷ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

明細書には、請求の範囲 1 2, 1 3 の「化合物またはその塩」について、その第 5 3 ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単に G 蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかは何ら記載されていない。また、スクリーニングにかける試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第 5 2 ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲 1 2 では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲 1 2 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 1 3 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲 1 2, 1 3 の記載は著しく不明確である。また、請求の範囲 1 2, 1 3 に記載の発明については、明細書による十分な裏付けを欠いている。



補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 Ⅲ 欄 1. の続き

けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲 1 2 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 1 3 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲 1 2, 1 3 の記載は著しく不明確である。したがって、請求の範囲 1 2, 1 3 に記載の発明については、見解を示すことができない。



提出書類の様式及び作成要領について

答弁書及び手続補正書は、特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律施行規則第62条（様式第23）及び同規則第31条（様式15）に従って作成して下さい。

【備考】

- 1 用紙は、日本工業規格A4列4号(縦21cm、横29.7cm)の大きさとし、可塑性のある、丈夫、白色の、均らかな、光沢のない、耐久性のあるものを選択し、折らずに片面のみを用い、用紙には、不要な文字、記号、棒線、けい線等を記載してはならない。
- 2 用紙には、しわ及びびり目があり得るものとし、
- 3 余白は、少なくとも用紙の上端、右端及び下端におおの2cm並びに左端に2.5cmをとるものとし、原則としてその上端及び左端についてはおおの4cm並びにその右端及び下端についてはおおの3cmを越えないものとする。この場合において、余白は、完全な空白としておくこともできる。ただし、上端の余白の左端であって上端から1.5cm以内に書頭記号(順番)に記載されている場合に限る。)を付すことができる。
- 4 答弁書は、タイプ印字又は刷印によるものとし、写真、計数的方法、写真オフセット及びマイクロフィルムによって直接に作られた部数の複製をすることができるように作成する。
- 5 答弁書のすべての用紙には、アラビア数字により1から始まる連続番号を用紙(余白部分を除く。)の上端又は下端の中央に付する。
- 6 タイプ印字による場合において、行の間隔は、少なくとも5mm以上をとる。ただし、備考1(「氏名」)及び備考2(「住所」)の文字を用いるときは、1.5文字の間隔をとる。
- 7 記載事項の文字の大きさ(「住所」1.1、1.4においてローマ字を用いるときは、大文字の大きさが0.21cm以上)により、かつ、暗色の色調性のない色であつて備考4に定める条件を満たすものとして記録する。
- 8 「国際出生地の表示」の欄には、既に裁判所から国際出生地番号の通知を受けている場合には、その番号を「PCT」/「POO」(○○○○○)のように記載し、国際出生地番号の通知を受ける前の場合には、その国際出生地の国名を月・年順の順に「○○.○○.○○」の国名で表出する(年については西暦紀元の下2桁)のように記載するとともに、書類番号(順番)に記載されている場合に限る。)を合せて記載する。
- 9 「氏名(名称)」は、自然人にあつては姓及び名を姓、名の順に記載し、また、法人にあつてはその名称を記載する。
- 10 「あて名」は、「日本国、何県、何市、何村、大字何、字何、何番地、何号」のように詳しく記載するとともに、郵便番号を記載する。
- 11 氏名若しくは名称又はあて名には、これらの音訳又は英語への翻訳をローマ字を用いて併記する。
- 12 「国籍」は、出願人又は代表者がその国籍である国の国名を記載する。
- 13 「住所」は、出願人又は代表者がその居住者である国の国名を記載する。
- 14 国名を記載する場合においては、特許庁長官が指定する国の名称を日本語及び英語により表示する。
- 15 「代理人」の欄には、その氏名の記載に合せて、その氏名の前に「弁護士」、「理士」又は「法定代理人」のうち該当するものを記載する。
- 16 代理人によるときは本人の氏名は不要とし、代理人によらないときは「代理人」の欄を設けるには及ばない。
- 17 各用紙においては、原則として抹消、訂正、重ね書き及び行間挿入を行つてはならない。
- 18 答弁書用紙は、容易に分離し、又はとじ直すことができるように例えばバネ等を用いてとじる。
- 19 「あて名」は出願人、代表者、代理人又は復代理人各人ごとに1つのあて名のみを記載する。
- 20 「復代理人」の欄には、その氏名の記載に合せて、その氏名の前に「弁護士」又は「理士」のうち該当するものを記載する。
- 21 復代理人によるときは代理人の氏名は不要とし、復代理人によらないときは「復代理人」の欄を設けるには及ばない。
- 22 日付は、西暦紀元及びグレゴリイ暦により、日についての数字、月についての数字及び年についての数字から2つの数字とその順序に従つてそれぞれについて2桁のアラビア数字で表示し、かつ、日及び月の数字の後に日付印を付す(例えば1978年3月0日は「3 0 0 3 7 8」)。他の紀元又は暦を用いる場合には、西暦紀元及びグレゴリイ暦による日付を併記する。

- 5 請求の範囲について補正をするときは、当該補正に係る請求の範囲を次のように記載した発明用紙を添付する。
- イ 新たに請求の範囲を追加するときは、その追加する請求の範囲に補正前の請求の範囲の最後のものに付した番号を「○（追加）」のうちに記載する。
- ロ いずれの請求の範囲を削除するときは、その削除する請求の範囲に付されている番号を「○（削除）」のうちに記載する。
- ハ 請求の範囲の数を増減せずに補正するときは、その補正された請求の範囲に補正前の請求の範囲の番号と同一の番号を「○（補正後）」のうちに記載する。
- 6 第5条の4第3項の規定によりフレキシブルディスクを提出するとき又は第5条の4第5項の規定により命令に基づきフレキシブルディスクを提出するとき、次の順序で記載する。
- イ 1 発明書目録（目録）の順に次のように記載する。
- 5 発明書類の目録 1 配列表に関するコードデータを記録したフレキシブルディスク 1枚
- 2 願文書 1通
- 3 フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記録した事項 1通
- ロ 「願文書」は、原則として次の文例により作成する。「図表出願の表示」の項目は、備考15に従って記載する。

陳述華

特許庁長官 殿

本書に添付したフレキシブルディスクに記録した塩基配列又はアミノ酸配列は、明細書に記載した塩基配列又はアミノ酸配列を忠実にコード化したものであって、内容を変更したものでないことを断言します。

平 成 年 月 日

国際出願の表示

発明の名称

(印)

- ハ）タイプシブルディタの記録形式等の情報を記録した書面は、原則として、「出願人氏名（名称）」、「代理人氏名（名称）」、「国際出願の表示」、「発明の名称」、「使用した文字コード」、「記録を記録したファイル名」及び「連絡先（電話番号及び担当者の氏名）」の項目を設けて記載することにより作成する。
- ニ 第5の3の3第5項の規定による命令に基づき配列を記載した書面を提出するときは、「7 付録記載の目録」の順に次のように記載し、「5 補正の対象」及び「6 補正の内容」の欄は設けない。
- 5 補録付録の目録 1 配列表を記載した書面 1 通
- 11 用紙は、日本工芸規格A判4号書（横21cm、縦29.7cm）の大きさとし、可撓性のある、丈夫な色の、滑らかな、光沢のない、耐久性のよいものを縦長にして、折らずに片面のみを用い、用紙には、不要な文字、記号、数字、図、線等を記載してはならない。
- 12 用紙には、しり及び裂けがけがないこととする。
- 13 余白は、少なくとも用紙の上端、右端及び下端のおおの2cm並びに左端に2.5cmをとるものとし、原則としてその上端及び左端についてはおのの4cm並びにその右端及び下端についてはおのおの3cmを越えないものとする。この場合において、余白は、完全な空白としておくこととする。ただし、上端の余白の左端であつて上端から1.5cm以内に番題番号（願書に記載されない場合を除く。）を付すことができる。
- 14 手続補正書は、タイプ用紙又は印刷によるものとし、写真、静電的方法、写真オフセット及びマイクロフィルムによるもので直接に任意の部数の複製をすることができるように作成し、手続補正書のすべての用紙には、アラビア数字によりから始まる連続番号を用紙（余白部分を除く。）の上端又はその中央に付する。
- 15 タイプ用紙による場合においては、行の間隔は、少なくとも5mm以上とする。ただし、備考16.19において、2行間隔を用いるときは、1.5文字の幅とする。
- 16 図表は、4号角より大きな文字（備考16.19においてローマ字を用いるときは、大文字の大きさが約2.1cm以上の文字）により、かつ、明色の逆色性の色でかつ備考9に規定の要件を満たすもので記載する。
- 17 「国際出願の表示」の欄には、既に特許庁から国際出願通知の通知を受けている場合には、その番号を「PCT/予/P/O/O/O/O/O」のように記載し、国際出願通知の通知を受ける前の場合には、その国際出願の提出日（年8月の順に「〇〇.〇〇.〇〇」提出日の国際出願）（年）については西暦元年（2桁）のように記載するとともに、番題番号（願書に記載されている場合を除く。）を合せて記載する。
- 18 「氏名（名称）」は、自然人にあつては姓及び名を姓、名の順に記載し、また、法人にあつてはその名称を記載する。
- 19 「あて名」は、「日本国、何某、何村、何村、大何、字何、何番地、何号」のように詳しく記載するとともに、郵便番号を記載する。
- 20 氏名若しくは名号又はあて名に、これらの音訳又は英語への翻訳をローマ字を用いて併記する。
- 21 「国籍」は、出願人又は代表者がその国籍である国の国名を記載する。
- 22 「住所」は、出願人又は代表者がその居住者である国の国名を記載する。
- 23 国名を記載する場合においては、特許庁長官が指定する国の名称を日本語及び英語により表示する。
- 24 「代理人」の欄には、その氏名の記載に合せて、その氏名の前に「弁護士」、「弁理士」又は「法定代理人」のうちの少なくとも1つを記載する。
- 25 代理人によるときは本人の印は不要とし、代理人によらないときは「代理人」の欄を設けるにはならない。
- 26 各用紙においては、原則として捺印、訂正、重ね書き及び行間挿入を行つてはならない。
- 27 手続補正書の用紙は、容易に分離し、又はと直すことができるよう例えば糊でクリップ等を用いとりどる。
- 28 「あて名」は出願人、代表者、復代理人又は本人ごとに1つのもてその名を記載する。
- 29 「復代理人」の欄には、その氏名の記載に合せて、その氏名の前に「弁護士」又は「弁理士」のうちの少なくとも1つを記載する。
- 30 復代理人によるときは本人の印は不要とし、復代理人によらないときは「復代理人」の欄を設けるにはならない。
- 31 日付は、西暦元年及びグレゴリー一暦により、日についての数字、月についての数字及び年についての原稿から2つの数字をこの順序に従つてそれぞれについて2桁のアラビア数字で表示し、かつ、日及び月の数字の後に日付記号を付す（例えば1978年3月30日は「30.0.1978.3.78」）。他の紀元又は暦を用いる場合には、西暦元年及びグレゴリー暦による日付を併記する。

様式第23 (第62条関係)

	答	弁	書
特許庁審査官		廣	
1 国際出願の表示			
2 出願人 (代表者)			
氏名 (名称)			
あて名			
国籍			
住所			
3 代理人			
氏名			
あて名			
4 通知の日付			
5 答弁の内容			
6 振付書類の目録			

〔備考〕

- ② 法第6条の規定による命令に基づき補正するときは、法第7条の規定による命令に基づく補正」とし、法第11条の規定により補正するときは「手続補正書（法第10条の補正書）（法第11条の規定による命令に基づく補正）」とし、令第1条第2項の規定による命令に基づく補正をするときは「手続補正書（令第1条第2項の規定による命令に基づく補正）」とし、第2条第7条の3第1項の規定により補正するときは「手続補正書（第2条第7条の3第1項の規定による命令に基づく補正）」とし、第8条第3項の規定により補正するときは「手続補正書（第8条第3項の規定による命令に基づく補正）」とし、第9条第1項の規定による命令に基づく補正」を「手続補正書（第5条第5条の3第3項の規定によるフルシリアルディクスを提出する」とは、「第5条の3第3項の規定によるフルシリアルディクスの提出書」とし、第5条の3第5項の規定による命令に基づくフルシリアルディクスの提出書」とし、第5条の3第5項の規定による命令に基づくフルシリアルディクスの提出書」とし、第5条の3第5項の規定による命令に基づく配列表を記載した書面を提出する」とは、「第5条の3第5項の規定による命令に基づく配列表を記載した書面の提出書」とし、第5条の3第8項の規定による命令に基づく補正をするときは、「手続補正書（第5条の3第8条の補正書）（第5条の3第8項の規定による命令に基づく補正）」とし、提出期限が満了後に提出された場合に改正の機会を付与した場合にあっては当該特許庁長官等、その他の場合においては特許庁長官とする。
- ③ 「改正の対象」の欄には、「願書のⅡ、出願人の欄」のように補正をする箇所と補正をする箇所を記載する。
- ④ 「改正の内容」の欄には、「別紙のとおり」と記載すると共に改正事項を指し示し、補正のため用紙を添付し用紙の欄頭に添付して添付する。ただし、補正の結果、用紙の全体が改変されることとなる場合は、令第6条、令第1条第2項、第2条第8条第1項もしくは第5条の3第8項の規定による命令に基づく手続補正の場合又は法第7条の3第1項の規定による手続補正の場合において、その補正事項について「訂正」ではなく「変更」を記載し換えることができることは容認され用紙上において、その補正に係る事項が、一部の箇所の削除及び修飾など訂正若しくは追加である場合には、用紙の明りよりよき及び直接接頭記号に影響を及ぼさないことを条件として、先に提出した手続補正書の用紙に修正することにより、添付を省略することができる。

様式第 15 (第 31 条関係)

	手	続	補	正	書
特許庁長官 (特許庁審査官)				殿 殿)	
1 国際出願の表示					
2 出願人 (代表者)					
氏名 (名称)					
あて名					
国籍					
住所					
3 代理人					
氏名					
あて名					
4 補正命令の日付					
5 補正の対象					
6 補正の内容					
7 総付書類の目録					



発信人 日本国特許庁 (国際調査機関)



出願人代理人

高 橋 秀 一

殿

あて名

〒 532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

01.2.26

PCT

国際調査報告又は国際調査報告を作成しない旨
の決定の送付の通知書

(法施行規則第41条)
[PCT規則44.1]

発送日

(日.月.年)

26.12.00

出願人又は代理人
の書類記号

2632WOOP

今後の手続きについては、下記1及び4を参照。

国際出願番号

PCT/JPO0/05683

国際出願日

(日.月.年)

24.08.00

出願人 (氏名又は名称)

武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

1. ☒ 国際調査報告が作成されたこと、及びこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

PCT19条の規定に基づく補正書及び説明書の提出

出願人は、国際出願の請求の範囲を補正することができる (PCT規則46参照)。

いつ 補正書の提出期間は、通常国際調査報告の送付の日から2月である。

詳細については添付用紙の備考を参照すること。

どこへ 直接次の場所へ

The International Bureau of WIPO

34, chemin des Colombettes

1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22)740.14.35

詳細な手続については、添付用紙の備考を参照すること。

2. ☐ 国際調査報告が作成されないこと、及び法第8条第2項 (PCT17条(2)(a)) の規定による国際調査報告を作成しない旨の決定をこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

3. ☐ 法施行規則第44条 (PCT規則40.2) に規定する追加手数料の納付に対する異議の申立てに関して、出願人に下記の点を通知する。

☐ 異議の申立てと当該異議についての決定を、その異議の申し立てと当該異議についての決定の両方を指定官庁へ送付することを求める出願人の請求とともに、国際事務局へ送付した。

☐ 当該異議についての決定は、まだ行われていない。決定されしだい出願人に通知する。

4. 今後の手続： 出願人は次の点に注意すること。

優先日から18月経過後、国際出願は国際事務局によりすみやかに国際公開される。出願人が公開の延期を望むときは、国際出願又は優先権の主張の取下げの通知がPCT規則90の2.1及び90の2.3にそれぞれ規定されているように、国際公開の事務的な準備が完了する前に国際事務局に到達しなければならない。

出願人が優先日から30月まで (官庁によってはもっと遅く) 国内段階の開始を延期することを望むときは、優先日から19月以内に、国際予備審査の請求書が提出されなければならない。

国際予備審査の請求書若しくは、後にする選択により優先日から19箇月以内に選択しなかった又は第II章に拘束されないため選択できなかったすべての指定官庁に対しては優先日から20月以内に、国内段階の開始のための所定手続を取らなければならない。

名称及びあて名

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員

特 許 庁 長 官

4N

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3488



注 意

1. 国際調査報告の発送日から起算する条約第19条(1)及び規則46.1に従う国際事務局への補正期間に注意してください。
2. 条約22条(2)に規定する期間に注意してください。
3. 文献の写しの請求について

国際調査報告に記載した文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することもできますが、日本特許情報機構でもこれらの引用文献の複写物を販売しています。日本特許情報機構に引用文献の複写物を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

- (1) 特許(実用新案・意匠)公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号(又は特許番号、登録番号)

○必要部数

- (2) 公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際調査報告の写しを添付してください(返却します)。

〔申込み及び照会先〕

〒135 東京都江東区東陽4-1-7 佐藤ダイヤビル
財団法人 日本特許情報機構 サービス課
TEL 03-5690-3900

注意 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。



この備考は、PCT 19条の規定に基づく補正書の提出に関する基本的な指示を与えるためのものである。この備考は特許協力条約並びにこの条約に基づく規則及び実施細則の規定に基づいている。この備考とそれらの規定とが相違する場合には、後者が適用される。詳細な情報については、WIPOの出版物であるPCT出願人の手引も参照すること。

PCT 19条の規定に基づく補正書の提出に関する指示

出願人は、国際調査報告を受領した後、国際出願の請求の範囲を補正する機会が一回ある。しかし、国際出願のすべての部分（請求の範囲、明細書及び図面）が、国際予備審査の手續においても補正できるもので、例えば出願人が仮保護のために補正書を公開することを希望する場合又は国際公開前に請求の範囲を補正する別の理由がある場合を除き、通常PCT 19条の規定に基づく補正書を提出する必要はないことを強調しておく。さらに、仮保護は一部の国のみで与えられるだけであることも強調しておく。

補正の対象となるもの

PCT 19条の規定により請求の範囲のみ補正することができる。
国際段階においてPCT 34条の規定に基づく国際予備審査の手續において請求の範囲を（更に）補正することができる。
明細書及び図面は、PCT 34条の規定に基づく国際予備審査の手續においてのみ補正することができる。
国内段階に移行する際、PCT 28条（又はPCT 41条）の規定により、国際出願のすべての部分を補正することができる。

いつ

国際調査報告の送付の日から2月又は優先日から16月の内どちらか遅く満了するほうの期間内。しかし、その期間の満了後であっても国際公開の技術的な準備の完了前に国際事務局が補正を受領した場合には、その補正書は、期間内に受理されたものとみなすことを強調しておく（PCT規則46.1）。

補正書を提出すべきところ

補正書は、国際事務局のみに提出でき、受理官庁又は国際調査機関には提出してはいけない（PCT規則46.2）。国際予備審査の請求書を提出した／する場合については、以下を参照すること。

どのように

1以上の請求の範囲の削除、1以上の新たな請求の範囲の追加、又は1以上の請求の範囲の記載の補正による。
差替え用紙は、補正の結果、出願当初の用紙と相違する請求の範囲の各用紙毎に提出する。
差替え用紙に記載されているすべての請求の範囲には、アラビア数字を付さなければならない。請求の範囲を削除する場合、その他の請求の範囲の番号を付け直す必要はない。請求の範囲の番号を付け直す場合には、連続番号で付け直さなければならない（PCT実施細則第205号(b)）。
補正は国際公開の言語で行う。

補正書にどのような書類を添付しなければならないか

書簡（PCT実施細則第205号(b)）

補正書には書簡を添付しなければならない。
書簡は国際出願及び補正された請求の範囲とともに公開されることはない。これを「PCT 19条(1)に規定する説明書」と混同してはならない（「PCT 19条(1)に規定する説明書」については、以下を参照）。
書簡は、英語又は仏語を選択しなければならない。ただし、国際出願の言語が英語の場合、書簡は英語で、仏語の場合、書簡は仏語で記載しなければならない。
書簡には、出願時の請求の範囲と補正された請求の範囲との相違について表示しなければならない。特に、国際出願に記載した各請求の範囲との関連で次の表示（2以上の請求の範囲についての同一の表示する場合は、まとめることができる。）をしなければならない。
(i) この請求の範囲は変更しない。
(ii) この請求の範囲は削除する。
(iii) この請求の範囲は追加である。
(iv) この請求の範囲は出願時の1以上の請求の範囲と差し替える。
(v) この請求の範囲は出願時の請求の範囲の分割の結果である。



次に、添付する書簡中での、補正についての説明の例を示す。

1. [請求の範囲の一部の補正によって請求の範囲の項数が48から51になった場合] :
“請求の範囲1-29、31、32、34、35、37-48項は、同じ番号のもとに補正された請求の範囲と置き換えられた。請求の範囲30、33及び36項は変更なし。新たに請求の範囲49-51項が追加された。”
2. [請求の範囲の全部の補正によって請求の範囲の項数が15から11になった場合] :
“請求の範囲1-15項は、補正された請求の範囲1-11項に置き換えられた。”
3. [原請求の範囲の項数が14で、補正が一部の請求の範囲の削除と新たな請求の範囲の追加を含む場合] :
“請求の範囲1-6及び14項は変更なし。請求の範囲7-13は削除。新たに請求の範囲15、16及び17項を追加。”又は
“請求の範囲7-13は削除。新たに請求の範囲15、16及び17項を追加。その他の全ての請求の範囲は変更なし。”
4. [各種の補正がある場合] :
“請求の範囲1-10項は変更なし。請求の範囲11-13、18及び19項は削除。請求の範囲14、15及び16項は補正された請求の範囲14項に置き換えられた。請求の範囲17項は補正された請求の範囲15、16及び17項に分割された。新たに請求の範囲20及び21項が追加された。”

“PCT19条(1)の規定に基づく説明書”(PCT規則46.4)

補正書には、補正並びにその補正が明細書及び図面に与える影響についての説明書を提出することができる(明細書及び図面はPCT19条(1)の規定に基づいては補正できない)。

説明書は、国際出願及び補正された請求の範囲とともに公開される。

説明書は、国際公開の言語で作成しなければならない。

説明書は、簡潔でなければならない、英語の場合又は英語に翻訳した場合に500語を越えてはならない。

説明書は、出願時の請求の範囲と補正された請求の範囲との相違を示す書簡と混同してはならない。説明書を、その書簡に代えることはできない。説明書は別紙で提出しなければならない、見出しを付すものとし、その見出しは“PCT19条(1)の規定に基づく説明書”の語句を用いることが望ましい。

説明書には、国際調査報告又は国際調査報告に列記された文献との関連性に関して、これらを誹謗する意見を記載してはならない。国際調査報告に列記された特定の請求の範囲に関連する文献についての言及は、当該請求の範囲の補正に関してのみ行うことができる。

国際予備審査の請求書が提出されている場合

PCT19条の規定に基づく補正書及び添付する説明書の提出の時に国際予備審査の請求書が既に提出されている場合には、出願人は、補正書(及び説明書)を国際事務局に提出すると同時にその写し及び必要な場合、その翻訳文を国際予備審査機関にも提出することが望ましい(PCT規則55.3(a)、62.2の第1文を参照)。詳細は国際予備審査請求書(PCT/IPEA/401)の注意書参照。

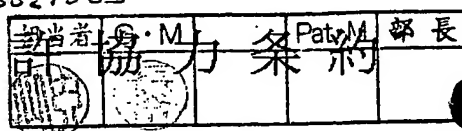
国内段階に移行するための国際出願の翻訳に関して

国内段階に移行する際、PCT19条の規定に基づいて補正された請求の範囲の翻訳を出願時の請求の範囲の翻訳の代わりに又は追加して、指定官庁/選択官庁に提出しなければならないこともあるので、出願人は注意されたい。

指定官庁/選択官庁の詳細な要求については、PCT出願人の手引きの第II巻を参照。



特



8

発信人 日本国特許庁（国際調査機関）

出願人代理人

高橋 秀一

殿

あて名

〒532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社知的財産部

P C T

調査用写しの受理通知書

(法施行規則第39条)
(PCT規則25.1)

PCT/JP00/05683

SA202



発送日（日．月．年）

26.09.00

出願人又は代理人
の書類記号

2632WOOP

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP00/05683

国際出願日（日．月．年）

24.08.00

優先日（日．月．年）

27.08.99

出願人（氏名又は名称）

武田薬品工業株式会社

1. 国際調査機関と受理官庁が同一の機関でない場合、

国際出願の調査用写しを国際調査機関が下記の日に受理したので通知する。

国際調査機関と受理官庁が同一の機関である場合、

国際出願の調査用写しを下記の日に受理したので通知する。

26日09月00年（受理の日）

2. ☒ 調査用写しには、コンピューター読取りが可能な形式によるヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が添付されている。
3. 国際調査報告の作成期間
国際調査報告の作成期間は、上記受理の日から3箇月の期間又は優先日から9箇月の期間のいずれか遅く満了する期間である。
4. この通知書の写しは、国際事務局及び上記1の第1文が適用される場合には受理官庁に送付した。

名称及びあて名

日本国特許庁（ISA/JP）

郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

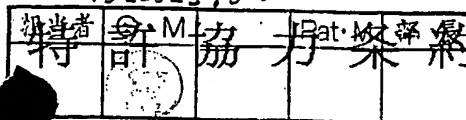
様式PCT/ISA/202（1998年7月）

権限のある職員

特 許 庁 長 官



9/7 東京
FAX



277回(2001.9月中旬~10月) 5
1.7倍増。

発信人 日本国特許庁(受理官庁)

出願人代理人

高橋 秀一

殿

あて名

〒532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85
武田薬品工業株式会社知的財産部

P C T

国際出願番号及び 国際出願日の通知書

(法施行規則第22条、第23条)
〔PCT規則20.5(c)〕

受付

00.9.-7

知的財産部

PCT/JP00/05683

RO105

発送日(日.月.年)

05.09.00

出願人又は代理人
の書類記号

2632WOOP

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP00/05683

国際出願日(日.月.年)

24.08.00

優先日(日.月.年)

27.08.99

出願人(氏名又は名称)

武田薬品工業株式会社

1. この国際出願は、上記の国際出願番号及び国際出願日が付与されたことを通知する。

記録原本は、05日09月00年に国際事務局に送付した。

注 意

- 国際出願番号は、特許協力条約を表示する「PCT」の文字、斜線、受理官庁を表示する2文字コード(日本の場合JP)、西暦年の最後から2桁の数字、斜線、及び5桁の数字からなっています。
- 国際出願日は、「特許協力条約に基づく国際出願に関する法律」第4条第1項の要件を満たした国際出願に付与されます。
- あて名等を変更したときは、速やかにあて名の変更届等を提出して下さい。
- 電子計算機による漢字処理のため、漢字の一部を当用漢字、又は、仮名に置き換えて表現してある場合もありますので御了承下さい。
- この通知に記載された出願人のあて名、氏名(名称)に誤りがあるときは申出により訂正します。
- 国際事務局は、受理官庁から記録原本を受領した場合には、出願人にその旨を速やかに通知(様式PCT/IB/301)する。記録原本を優先日から14箇月が満了しても受領していないときは、国際事務局は出願人にその旨を通知する。〔PCT規則22.1(c)〕

名称及びあて名

日本国特許庁(RO/JP)

郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

様式PCT/RO/105(1998年7月)

権限のある職員

特 許 庁 長 官

特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

国際出願番号

国際出願日

(受付印)

出願人又は代理人の書類記号
(希望する場合、最大12字)

2632WO0P



第 I 欄 発明の名称

新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

第 II 欄 出願人

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

武田薬品工業株式会社
TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
〒541-0045 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi,
OSAKA 541-0045 JAPAN

☐ この欄に記載した者は、
発明者でもある。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電話番号:

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☒ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

渡辺卓也 WATANABE Takuya
〒532-0033 日本国大阪府大阪市淀川区新高6丁目14番9-B904号
14-9-B904, Niitaka 6-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, OSAKA
532-0033 JAPAN

この欄に記載した者は、
次に該当する:

☐ 出願人のみである。

☒ 出願人及び発明者である。

☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が続葉に記載されている。

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する: ☒ 代理人 ☐ 共通の代表者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

11404 弁理士 高橋秀一 TAKAHASHI Shuichi
〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内
c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN

電話番号:

03-3278-2235

ファクシミリ番号:

03-3278-2222

加入電話番号:

☐ 通知のためのあて名: 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続葉を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

菊地久仁子 KIKUCHI Kuniko
〒302-0024 日本国茨城県取手市新町5丁目8-18-101号
8-18-101, Shinmachi 5-chome, Toride-shi, IBARAKI 302-0024 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 Japan

住所(国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

新谷靖 SHINTANI Yasushi
〒305-0821 日本国茨城県つくば市春日1丁目7番地9-703号
7-9-703, Kasuga 1-chome, Tsukuba-shi, IBARAKI 305-0821 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 Japan

住所(国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☐ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☐ その他の出願人又は発明者が他の続葉に記載されている。



第Ⅴ欄 国の指定

規則 4. 9(a)の規定に基づき次の指定を行う (該欄の□にレ印を付すこと; 少なくとも1つの□にレ印を付すこと)。

広域特許

- ☒ **AP** **ARIPO特許** : GH ガーナ Ghana, GM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SL シエラ・レオネ Sierra Leone, SZ スワジランド Swaziland, TZ タンザニア United Republic of Tanzania, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ **EA** **ユーラシア特許** : AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギス Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ **EP** **ヨーロッパ特許** : AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, CY キプロス Cyprus, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
- ☒ **OA** **OAPI特許** : BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベナン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI コートジボアール Cote d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, GW ギニア・ビサウ Guinea-Bissau, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的所有権機構のメンバー国と特許協力条約の締約国である他の国 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する)

国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する)

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE アラブ首長国連邦 United Arab Emirates | <input type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg |
| <input type="checkbox"/> AL アルバニア Albania | <input checked="" type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia | <input checked="" type="checkbox"/> MA モロッコ Morocco |
| <input type="checkbox"/> AT オーストリア Austria | <input checked="" type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia | <input checked="" type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan | <input checked="" type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国 The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴヴィナ Bosnia and Herzegovina | |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados | <input checked="" type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria | <input type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil | <input checked="" type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus | <input checked="" type="checkbox"/> NO ノールウェー Norway |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada | <input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand |
| <input type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> PL ポーランド Poland |
| | <input type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China | <input checked="" type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania |
| <input checked="" type="checkbox"/> CR コスタリカ Costa Rica | <input checked="" type="checkbox"/> RU ロシア Russian Federation |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU キューバ Cuba | <input type="checkbox"/> SD スーダン Sudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic | <input type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden |
| <input type="checkbox"/> DE ドイツ Germany | <input checked="" type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore |
| <input type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark | <input checked="" type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia |
| <input checked="" type="checkbox"/> DM ドミニカ Dominica | <input checked="" type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE エストニア Estonia | <input type="checkbox"/> SL シエラ・レオネ Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> ES スペイン Spain | <input checked="" type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan |
| <input type="checkbox"/> FI フィンランド Finland | <input checked="" type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom | <input checked="" type="checkbox"/> TR トルコ Turkey |
| <input type="checkbox"/> GD グレナダ Grenada | <input checked="" type="checkbox"/> TT トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE グルジア Georgia | <input type="checkbox"/> TZ タンザニア United Republic of Tanzania |
| <input type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana | <input checked="" type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine |
| <input type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia | <input type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR クロアチア Croatia | <input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary | <input checked="" type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia | <input checked="" type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL イスラエル Israel | <input checked="" type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN インド India | <input checked="" type="checkbox"/> ZA 南アフリカ共和国 South Africa |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland | <input type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan | |
| <input type="checkbox"/> KE ケニア Kenya | 以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定 (国内特許のために) するためのものである |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG キルギス Kyrgyzstan | <input checked="" type="checkbox"/> DZ アルジェリア Democratic People's Republic of Algeria |
| <input type="checkbox"/> KP 北朝鮮 Democratic People's Republic of Korea | <input checked="" type="checkbox"/> AG アンティグア・バーブーダ Antigua and Barbuda |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea | <input checked="" type="checkbox"/> MZ モザンビーク Mozambique |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan | <input checked="" type="checkbox"/> BZ ベリーズ Belize |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC セント・ルシア Saint Lucia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR リベリア Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS レソト Lesotho | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania | |

確認の指定の宣言: 出願人は、上記の指定に加えて、規則 4. 9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、この宣言から除く旨の表示を追記欄にした国は、指定から除かれる。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。 (指定の確認(料金を含む)は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出しなければならない。)

追記欄

この追記欄を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄.....の続き」(欄番号を表示する)と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。; 特に、

(i) 出願人又は発明者として3人以上いる場合で、「続葉」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅲ欄の続き」と表示し、第Ⅲ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

(ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しいるとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する出願人の氏名(名称)を表示し、それぞれの氏名(名称)の次にその者が出願人となる指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のための又は米国のための発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

(v) 第Ⅴ欄において指定国又はOAPI特許が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国又はOAPI特許を表示し、それぞれの指定国又はOAPI特許の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

(vi) 第Ⅵ欄において優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

(vii) 第Ⅵ欄において先の出願がARIPOの特許出願であるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、その先の出願に対応する項目の番号を特定して、更に、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を表示する。

2. 出願人が、第Ⅴ欄における確認の指定の宣言に関し、その宣言からいずれかの国を除くことを希望するとき。

この場合は、「確認の指定の宣言から、以下の指定国を除く」と記載し、除かれる国名又は2文字の国コードを表示する。

3. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性の喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

「第Ⅳ欄の続き」

11045 弁理士 内山 務 UCHIYAMA Tsutomu

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN



第VI欄 優先権主張

☐

他の優先権の主張(先の出願)が追記欄に記載されている

先の出願日 (日. 月. 年)	先の出願番号	先の出願		
		国内出願 : 国 名	広域出願 : *広域官庁名	国際出願 : 受理官庁名
(1) 27. 08. 99	平成11年特許願 第241529号	日本国 Japan		
(2)				
(3)				

☒ 上記 () の番号の先の出願(ただし、本国際出願が提出される受理官庁に対して提出されたものに限る)のうち、次の () の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁(日本国特許庁の長官)に対して請求している。

(1)

*先の出願が、ARIPOの特許出願である場合には、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない(規則4.10(b)(ii))。追記欄を参照。

第VII欄 国際調査機関

国際調査機関 (ISA) の選択

ISA/JP

先の調査結果の利用請求; 当該調査の照会
(先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合)

出願日 (日. 月. 年)

出願番号

国名 (又は広域官庁)

第VIII欄 照合欄 ; 出願の言語

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

願書 5 枚
明細書 (配列表を除く) 66 枚
請求の範囲 2 枚
要約書 1 枚
図面 5 枚
明細書の配列表 5 枚
合計 84 枚

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- ☒ 手数料計算用紙
- ☐ 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
- ☐ 国際事務局の口座への振込みを証明する書面
- ☐ 別個の記名押印された委任状
- ☒ 包括委任状の写し
- ☐ 記名押印 (署名) の説明書
- ☐ 優先権書類 (上記第VI欄の () の番号を記載する):
- ☐ 国際出願の翻訳文 (翻訳に使用した言語名を記載する):
- ☐ 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面
- ☒ ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列表 (フレキシブルディスク)
- ☒ その他 (書類名を詳細に記載する): 陳述書、フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面

要約書とともに提示する 図面:

本国際出願の使用言語名:

日本語

IX欄 提出者の記名押印

各人の氏名 (名称) を記載し、その次に押印する。

高橋 秀一



内山 務



1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日		2. 図面	
3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であって その後期間内に提出されたものの実際の受理の日 (訂正日)		<input type="checkbox"/> 受理された	
4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日		<input type="checkbox"/> 不足図面がある	
5. 出願人により特定された 国際調査機関	ISA/JP	6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に 調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

記録原本の受理の日

様式 PCT/RO/101 (最終用紙) (1998年7月: 再版2000年1月)



手数料計算用紙

願書附属書

国際出願番号

出願人又は代理人の書類記号

2632WO0P.

受理官庁の日付印

出願人

武田薬品工業株式会社

所定の手数料の計算

1. 及び2. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律（国内法）
第18条第1項第1号の規定による手数料（注1）
（送付手数料 [T] 及び調査手数料 [S] の合計）

90,000 円 T+S

国際手数料（注2）

基本手数料

国際出願に含まれる用紙の枚数 84 枚

最初の30枚まで

40,700 円 b1

54 × 940 =

50,760 円 b2

30枚を越える用紙の枚数 用紙1枚の手数料

b1及びb2に記入した金額を加算し、合計額をBに記入

91,460 円 B

指定手数料

国際出願に含まれる指定数（注3） 66

8 × 8,800 =

70,400 円 D

支払うべき指定手数料
の数（上限は8）
（注4）

1指定当たり
の手数料
（円）

B及びDに記入した金額を加算し、合計額をIに記入

161,860 円 I

4. 納付すべき手数料の合計

T+S及びIに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入

251,860 円

合 計

（注1）送付手数料及び調査手数料については、合計金額を特許印紙をもって納付しなければならない。

（注2）国際手数料については、受理官庁である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振込を証明する書面を提出することにより納付しなければならない。

（注3）願書第V欄でレ印を付した □ の数。

（注4）指定数を記入する。ただし、8指定以上は一律8とする。



陳述書

特許庁長官殿

本書に添付したフレキシブルディスクに記録した塩基配列またはアミノ酸配列は、明細書に記載した塩基配列またはアミノ酸配列を忠実にコード化したものであって、内容を変更したものではないことを陳述します。

平成12年8月24日

国際出願の表示

24.08.00 提出の国際出願 (2632WOOP)

発明の名称

新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

代理人

氏名 11404 弁理士 高橋 秀一

TAKAHASHI Shuichi



あて名 〒532-0024

日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,

OSAKA 532-0024 JAPAN



フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面

1. 出願人名称

武田薬品工業株式会社

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

2 代理人氏名

11404 弁理士 高橋 秀一 TAKAHASHI Shuichi

3 国際出願の表示

24.08.00提出の国際出願 (2632WOOP)

4 発明の名称

新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

5 使用した文字コード

シフトJISコード

6 配列を記録したファイル名

2632.TXT

7 連絡先

電話番号 06-6300-6786

担当者氏名 内山 務



代理人選任証

29. 09. 1999

弁理士 高橋 秀一 殿

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

名称 武田薬品工業株式会社

代表者 武田 國男



すべての国際出願に関する手続について、貴殿を代理人に選任したことに
相違ありません。



包括委任状

12. 11. 97

私儀 弁理士 内山 務 を代理人と定めて、 特許協力条約に基づく
すべての国際出願に関する一切の件を委任します。

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

名 称 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

代表者 武 田 國 男





優先権証明願 (PCT)

特許庁長官殿

1. 事件の表示

平成11年特許願第241529号



2. 請求人

識別番号 100114041

住所 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

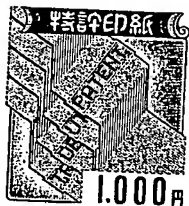
武田薬品工業株式会社 大阪工場内

氏名 ^{ふりがな} 弁理士 ^{たかはし} 高橋 ^{しょういち} 秀一

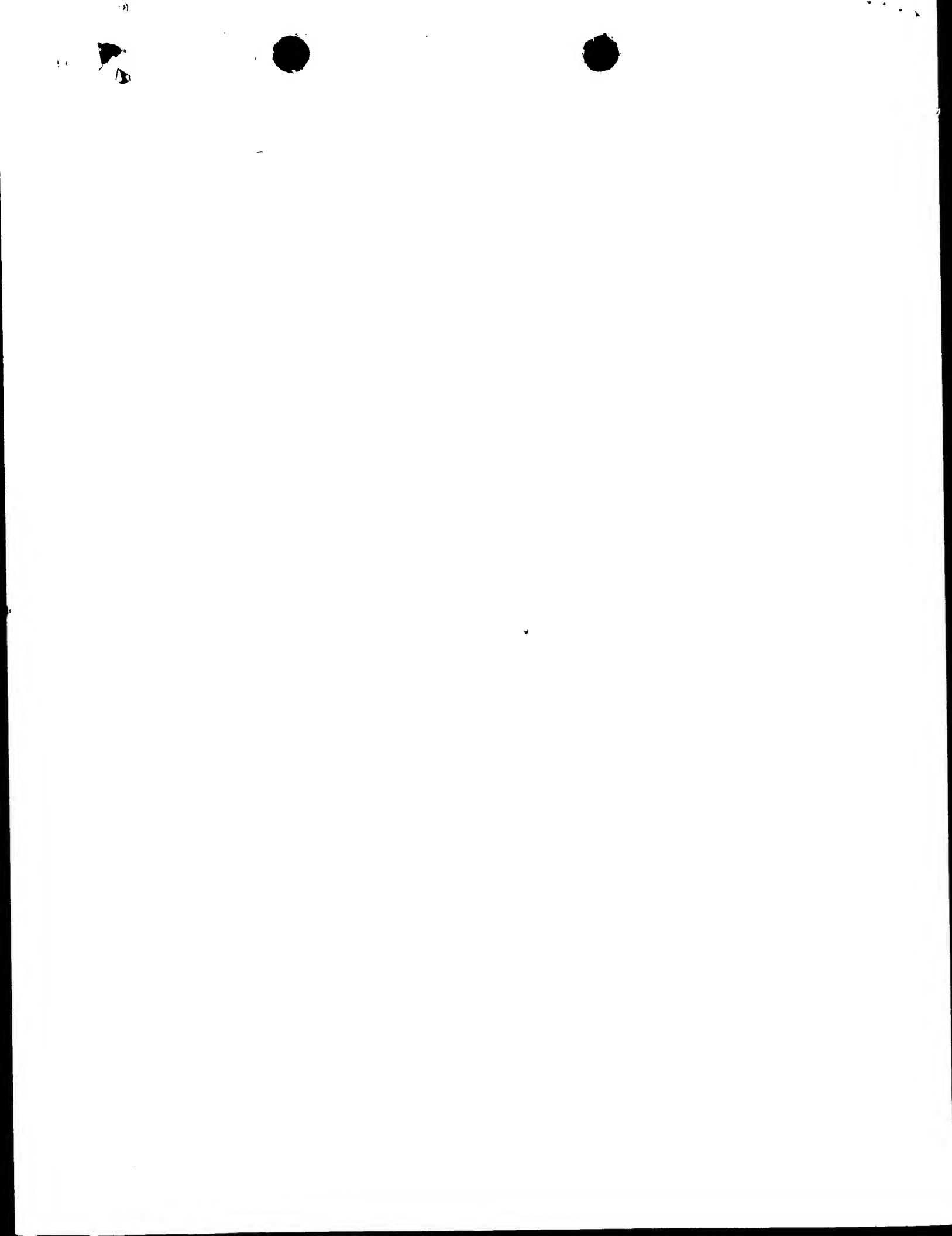


電話番号 03-3278-2235 (担当者 矢口)

3. 出願国名 PCT



1,400円)



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 2632WOOP	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05683	国際出願日 (日.月.年) 24.08.00	優先日 (日.月.年) 27.08.99
出願人(氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 6 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は

☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は

☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 1 2, 1 3 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
明細書には、請求の範囲 1 2, 1 3 の「化合物またはその塩」について、その第 5 3 ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単に G 蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかは何ら記載されて
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



第Ⅲ欄 要約 (第1ページの5の続き)

本発明は、ヒト脳由来の蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）またはその塩、該蛋白質をコードするDNA、該蛋白質に対するリガンドの決定方法、リガンドと該蛋白質との結合性を変化させる化合物（アゴニスト、アンタゴニストなど）のスクリーニング方法／スクリーニング用キット、該スクリーニングで得られる化合物またはその塩などに関する。

本発明のヒト脳由来の蛋白質またはそれをコードするDNAは、本発明の蛋白質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤などに用いることができる。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/12, 15/12, C12P21/02,
A61K45/00, G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K14/00-14/825, C12N15/11-15/62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	WO, 00/22131, A2 (ARENA PHARMACEUTICALS, INC.) 20.4月.2000 (20.04.00) & AU, 9962991, A	1-11, 14
X	GenBank Accession No. AI083852, "qf23d12.x1 NCI_CGAP_Brn25 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:1750871 3' similar to contains PTR5.b2 TAR1 repetitive element ;, mRNA sequence." February 13, 1999, NCI/NINDS-CGAP http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncicgap .	14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.12.00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生



4N

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	DE, 19805351, A1 (BASF AG) 12.8月.1999 (12.08.99) & EP, 943685, A2 & JP, 11-318452, A	1-11, 14
A	EP, 845529, A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 3.6月.1998 (03.06.98) & JP, 10-127289, A & US, 6048711, A	1-11, 14
A	DONOHUE, Patrick J. et al., "A human gene encodes a putative G protein-coupled receptor highly expressed in the central nervous system", Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54, Number 1, pages 152-160	1-11, 14
A	MARAZZITI, Daniela et al., "Cloning of GRP37, a Gene Located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library", Genomics, October 1, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77	1-11, 14
A	O'DOWD, Brian F. et al., "Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes", Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81	1-11, 14

第 I 欄 2. の続き

いない。また、スクリーニングにかける試験化合物についても、「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第 52 ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲 12 では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲 12 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 13 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であって、請求の範囲 12, 13 の記載は著しく不明確である。したがって、請求の範囲 12, 13 に記載の発明については、有効な国際調査をすることができない。

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 20 JUL 2001

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 2632WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/05683	国際出願日 (日.月.年) 24.08.00	優先日 (日.月.年) 27.08.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/12, 15/12, C12P21/02, A61K45/00, G01N33/53		
出願人(氏名又は名称) 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 7 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☒ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 29.09.00	国際予備審査報告を作成した日 09.07.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 内 田 俊 生	4B 8214
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)という翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)という国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3という翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)



Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 12, 13

理由：

☐ この国際出願又は請求の範囲 _____ は、国際予備審査をすることを要しない
次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 12, 13 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

明細書には、請求の範囲12、13の「化合物またはその塩」について、その第53ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単にG蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにならず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかが何ら記載されていない。また、スクリーニングにかかる試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第52ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲12では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に續けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことで記載されている。

☒ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 12, 13 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 12, 13 について、国際調査報告が作成されていない。

2. スクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-11, 14	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 : DE 19805351 A1 (BASF AG)
12.8月.1999 (12.08.99)

文献2 : EP 845529 A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)
3.6月.1998 (03.06.98)

文献3 : DONOHUE, Patrick J. et al., A human gene encodes a putative G protein-coupled receptor highly expressed in the centralnervous system,
Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54, Number 1, pages 152-160

文献4 : MARAZZITI, Daniela et al., Cloning of GRP37, a Gene Located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library,
Genomics, October 1, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77

文献5 : O'DOWD, Brian F. et al., Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes,
Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81

請求の範囲 1-11, 14

請求の範囲 1-11, 14に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献1-5に対して、新規性及び進歩性を有する。

文献1-5には、あるG蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードするDNAが記載されているものの、本国際出願のG蛋白質共役型レセプター蛋白質又はそれをコードするDNAは、文献1-5に記載のものとは相異し、かつ、それらとは配列上の相同性が低いので当該技術分野の専門家にとって自明なものでもない。

なお、GenBank Accession No. AI083852 (February 13, 1999) の配列からなるDNAは、請求の範囲14に記載のDNAの条件を満たすものである。



VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO, 00/22131, A2 「E, X」	20.04.00	13.10.99	13.10.98

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	----------------------------------------



VII. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

明細書には、請求の範囲12、13の「化合物またはその塩」について、その第53ページ下段に「具体的には、」で始まる記載がなされているが、これは単にG蛋白質共役型レセプターをスクリーニングに使用することから当然に予想し得る一般的事項を記載したものにとすぎず、どのような具体的な化合物がそれに該当するのかが何ら記載されていない。また、スクリーニングにかかる試験化合物についても「例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ」（第52ページ上段）と記載されているように、具体的には、明細書に何ら記載されていないに等しいといえる（「ペプチド」と「非ペプチド性化合物」が併記されていることからみても明らかである）。それどころか、請求の範囲12では「化合物またはその塩」自体に対して保護を求めているのに、明細書には上記記載に続けて「これらの化合物は新規な化合物であってもよい」という意味不明なことまで記載されている。

そうすると、請求の範囲12に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲13に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲12、13の記載は著しく不明確である。また、請求の範囲12、13に記載の発明については、明細書による十分な裏付けを欠いている。



補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 III 欄 1. の続き

そうすると、請求の範囲 12 に記載の発明の「化合物またはその塩」及び請求の範囲 13 に記載の発明で使用する「化合物またはその塩」が、どのようなものであるのかが不明であり、請求の範囲 12, 13 の記載は著しく不明確である。したがって、請求の範囲 12, 13 に記載の発明については、見解を示すことができない。



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2632WO0P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/05683	International filing date (day/month/year) 24 August 2000 (24.08.00)	Priority date (day/month/year) 27 August 1999 (27.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 14/705, 16/28, C12N 1/12, 15/12, C12P 21/02, A61K 45/00, G01N 33/53		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 29 September 2000 (29.09.00)	Date of completion of this report 09 July 2001 (09.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



I. Basis of the report**1. With regard to the elements of the international application:***

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 12,13

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 12,13
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

See supplemental sheet for continuation of Box III. 1.

- ☒ the claims, or said claims Nos. 12,13 are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 12,13.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III. 1.

The description, page 53, bottom, concerning the "compound or salt thereof" of Claims 12 and 13, begins "specifically, ..."; however, this simply describes general aspects which could naturally be predicted from use of a G-protein-coupled receptor in screening, and does not indicate any corresponding specific compound. Similarly, the description states in relation to test compounds in screening that, "substances such as peptides, proteins, non-peptide compounds, synthetic compounds, fermentation products, cell extracts, plant extracts and animal tissue extracts, for example, can be used" (page 52, top), which does not state anything specific (this is clear from the mention of both "peptides" and "non-peptide compounds"). Moreover, seeking to protect the "compound or salt thereof" in Claim 12, the description continues the aforementioned description with the meaningless phrase "these compounds can also be novel compounds".

The nature of the "compound or salt thereof" of the invention described in Claim 12, and the "compound or salt thereof" used in the invention described in Claim 13 is thus very unclear; therefore, no opinion can be given on the inventions described in Claims 12 and 13.



V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-11, 14	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-11, 14	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11, 14	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: DE, 19805351, A1 (BASF AG), 12 August 1999
(12.08.99)

Document 2: EP, 845529, A2 (Takeda Chemical Industries,
Ltd.), 3 June 1998 (03.06.98)

Document 3: Patrick J. Donohue et al., "A human gene
encodes a putative G protein-coupled receptor
highly expressed in the central nervous
system", Molecular Brain Research, February,
1998, Vol. 54, No. 1, pp. 152-160

Document 4: Daniela Marazziti et al., "Cloning of GRP37,
a gene located on chromosome 7 encoding a
putative G-protein-coupled receptor, from a
human frontal brain EST library, Genomics, 1
October 1997, Vol. 45, No. 1, pp. 68-77

Document 5: Brian F. O'Dowd et al., "Cloning and
chromosomal mapping of four putative novel
human G-protein-coupled receptor genes",
Gene, 10 March 1997, Vol. 187, No. 1, pp.
75-81

Claims 1-11 and 14

The inventions described in Claims 1-11 and 14 are
novel and involve an inventive step relative to Documents
1-5, cited in the international search report.



Documents 1-5 disclose G-protein-coupled receptor proteins or DNA coding the same; however, the G-protein-coupled receptor protein and DNA coding the same in the present international application differ from those disclosed in Documents 1-5 and show low homology with the sequences disclosed in Documents 1-5, and hence are not obvious to a person skilled in the art.

It should be noted that DNA comprising the sequence of GenBank Accession No. AI083852 (13 February 1999) satisfies the conditions for DNA described in Claim 14.



VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

<u>Application No. Patent No.</u>	<u>Publication date (day/month/year)</u>	<u>Filing date (day/month/year)</u>	<u>Priority date (valid claim) (day/month/year)</u>
WO,00/22131,A2 [E,X]	20 April 2000 (20.04.2000)	13 October 1999 (13.10.1999)	13 October 1998 (13.10.1998)

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

<u>Kind of non-written disclosure</u>	<u>Date of non-written disclosure (day/month/year)</u>	<u>Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)</u>
---------------------------------------	------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/05683

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl.⁷ C07K14/705, 16/28, C12N1/22, 15/12, C12P21/02, A61K45/00, G01N33/53

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁷ C07K14/00-14/825, C12N15/11-15/62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
GenBank/EMBL/DBJ/Geneseq, SwissProt/PIR/Geneseq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO, 00/22131, A2 (ARENA PHARMACEUTICALS, INC.), 20 April, 2000 (20.04.00) & AU, 9962991, A	1-11, 14
X	GenBank Accession No. A1083852, "qf23d12.x1 NCI CGAP_Brn25 Homo sapiens cDNA IMAGE:1750871.3" similar to contains PIR5_b2 TARI repetitive element"; mRNA sequence." 13 February, 1999. NCI/NINDS-CGAP http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncicgap .	14
A	DE, 19805351, A1 (BASF AG), 12 August, 1999 (12.08.99) & EP, 943685, A2 & JP, 11-318452, A	1-11, 14
A	EP, 845529, A2 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 03 June, 1998 (03.06.98) & JP, 10-127289, A & US, 6048711, A	1-11, 14
A	DONOHUE, Patrick J. et al., "A human gene encodes a putative G-protein-coupled receptor highly expressed in the central nervous system", Molecular Brain Research, February, 1998, Volume 54,	1-11, 14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not
 considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing
 date
 "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is
 cited to establish the publication date of another citation or other
 special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
 means
 "P" document published prior to the international filing date but later
 than the priority date claimed
 "X" later document published after the international filing date or
 priority date and not in conflict with the application but cited to
 understand the principle or theory underlying the invention
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
 considered novel or cannot be considered to involve an inventive
 step when the document is taken alone
 "Z" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
 considered to involve an inventive step when the document is
 combined with one or more other such documents, such
 combination being obvious to a person skilled in the art
 "a" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search report
14 December, 2000 (14.12.00)Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/05683

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Number 1, pages 152-160 MARAZZITI, Daniela et al., "Cloning of GRP37, a Gene located on Chromosome 7 Encoding a Putative G-Protein-Coupled Peptide Receptor, from a Human Frontal Brain EST Library", Genomics, 01 October, 1997, Volume 45, Number 1, pages 68-77	1-11, 14
A	O'DOMD, Brian F. et al., "Cloning and chromosomal mapping of four putative novel human G-protein-coupled receptor genes", Gene, March 10, 1997, Volume 187, Number 1, pages 75-81	1-11, 14

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05683

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05683

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 12, 13

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See extra sheet

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(g).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:Remark on Protest ☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box No. I-2 of continuation of first sheet (1)

Regarding the "compound or its salt" as stated in claims 12 and 13, the illustration starting with "more particularly," is presented in the description (page 53, lower column). However, it merely illustrates general matters which can be certainly anticipated when a protein-coupled receptor is used in screening. It is never reported therein what particular compounds fall within the category. With respect to the test compounds to be subjected to the screening, it is described "use may be made of, for example, peptides, proteins, non-peptide compounds, synthetic compounds, fermentation products, cell extracts, plant extracts, animal tissue extracts and the like" (page 52, upper column). Namely, it can be said that the description discloses no particular compound. (This is obvious from the fact that both of "peptides" and "non-peptide compounds" are cited.) Although it is required in claim 12 to protect the "compound or its salt" per se, moreover, the above statement in the description is followed by a completely nonsense expression "these compounds may be novel ones".

Accordingly, it is unclear what are the "compound or its salt" in the invention as set forth in claim 12 and the "compound or its salt" to be used in the invention as set forth in claim 13. Therefore, the claims 12 and 13 are described in an extremely unclear manner. Such being the case, no meaningful international search can be practiced on the inventions of claims 12 and 13.

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年3月8日 (08.03.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/16179 A1

(51) 国際特許分類: C07K 14/705, 16/28, C12N 1/12, 15/12, C12P 21/02, A61K 45/00, G01N 33/53

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05683

(22) 国際出願日: 2000年8月24日 (24.08.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/241529 1999年8月27日 (27.08.1999) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 渡辺 卓也

(WATANABE, Takuya) [JP/JP]; 〒532-0033 大阪府大阪市淀川区新高6丁目14番9-B904号 Osaka (JP). 菊地久仁子 (KIKUCHI, Kuniko) [JP/JP]; 〒302-0024 茨城県取手市新町5丁目8-18-101号 Ibaraki (JP). 新谷 靖 (SHINTANI, Yasushi) [JP/JP]; 〒305-0821 茨城県つくば市春日1丁目7番地9-703号 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 弁理士 高橋秀一, 外 (TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,

/続保有/

(54) Title: NOVEL G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR PROTEIN AND DNA THEREOF

(54) 発明の名称: 新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

(57) Abstract: A human brain-origin protein (a G protein-coupled receptor protein) or its salt; a DNA encoding this protein; a method of determining a ligand to this protein; a method/kit for screening a compound (for example, an agonist, an antagonist) capable of altering the binding properties of the ligand to the protein; a compound obtained by the screening or its salt, etc. The human brain-origin protein as described above or the DNA encoding the same can be used in preventives and/or remedies for diseases in association with the dysfunction of the protein.

(57) 要約:

本発明は、ヒト脳由来の蛋白質 (G蛋白質共役型レセプター蛋白質) またはその塩、該蛋白質をコードするDNA、該蛋白質に対するリガンドの決定方法、リガンドと該蛋白質との結合性を変化させる化合物 (アゴニスト、アンタゴニストなど) のスクリーニング方法/スクリーニング用キット、該スクリーニングで得られる化合物またはその塩などに関する。

本発明のヒト脳由来の蛋白質またはそれをコードするDNAは、本発明の蛋白質の機能不全に関連する疾患の予防および/または治療剤などに用いることができる。

WO 01/16179 A1



AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正誓受
領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明細書

新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質およびそのDNA

5 技術分野

本発明は、ヒト脳由来の新規蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）またはその塩およびそれをコードするDNAなどに関する。

背景技術

- 10 多くのホルモンや神経伝達物質は、細胞膜に存在する特異的なレセプター蛋白質を通じて生体の機能を調節している。これらのレセプター蛋白質の多くは共役しているguanine nucleotide-binding protein（以下、G蛋白質と略称する場合がある）の活性化を通じて細胞内のシグナル伝達を行ない、また7個の膜貫通領域を有する共通した構造をもっていることから、G蛋白質共役型レセ
- 15 プター蛋白質あるいは7回膜貫通型レセプター蛋白質と総称される。

G蛋白質共役型レセプター蛋白質は生体の細胞や臓器の各機能細胞表面に存在し、それら生体の細胞や臓器の機能を調節する分子、例えばホルモン、神経伝達物質および生理活性物質等の標的として非常に重要な役割を担っている。

- 各種生体の細胞や臓器の内の複雑な機能を調節する物質と、その特異的レセ
- 20 プター蛋白質、特にG蛋白質共役型レセプター蛋白質との関係を明らかにすることは、各種生体の細胞や臓器の機能を解明し、それら機能と密接に関連した医薬品開発に非常に重要な手段を提供することとなる。

- 例えば、脳などの中枢神経系の器官では、多くのホルモン、ホルモン様物質、神経伝達物質あるいは生理活性物質などによる調節のもとで脳の生理的な機能
- 25 の調節が行なわれている。特に、神経伝達物質は脳内の様々な部位に存在し、それぞれに対応するレセプター蛋白質を通してその生理機能の調節を行っている。脳内には未だ未知の神経伝達物質も多く、そのレセプター蛋白質をコードするcDNAの構造に関しても、これまで報告されていないものも多いと考え

られる。さらに、既知のレセプター蛋白質のサブタイプが存在するかどうかについて分かっていなかった。

脳における複雑な機能を調節する物質と、その特異的レセプター蛋白質との関係を明らかにすることは、医薬品開発に非常に重要な手段である。また、レセプター蛋白質に対するアゴニスト、アンタゴニストを効率よくスクリーニングし、医薬品を開発するためには、脳内で発現しているレセプター蛋白質の遺伝子の機能を解明し、それらを適当な発現系で発現させることが必要であった。

近年、生体内で発現している遺伝子を解析する手段として、cDNAの配列をランダムに解析する研究が活発に行なわれており、このようにして得られたcDNAの断片配列がExpressed Sequence Tag (EST) としてデータベースに登録され、公開されている。しかし、多くのESTは配列情報のみであり、その機能を推定することは困難である。

発明の開示

本発明は、ヒト脳由来の新規蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）、その部分ペプチドまたはそれらの塩、該蛋白質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有するDNA、該DNAを含有する組換えベクター、該組換えベクターで形質転換された形質転換体、該蛋白質またはその塩の製造法、該蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩に対する抗体、該蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）に対するリガンドの決定方法、リガンドと該蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、該スクリーニング用キット、該スクリーニング方法もしくはスクリーニングキットを用いて得られるリガンドと該蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）との結合性を变化させる化合物またはその塩、およびリガンドと該蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）との結合性を变化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬などを提供する。

本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、ヒト脳由来の新規な蛋白質（G蛋白質共役型レセプター蛋白質）をコードするcDNAを単離し、全塩基配列を解

析することに成功した。そして、この塩基配列をアミノ酸配列に翻訳したところ、第1～第7膜貫通領域が疎水性プロット上で確認され、これらのcDNAにコードされる蛋白質が7回膜貫通型のG蛋白質共役型レセプター蛋白質であることを確認した(図3)。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに

5 研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、

- (1) 配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有することを特徴とする蛋白質またはその塩、
- (2) 上記(1)記載の蛋白質の部分ペプチドまたはその塩、
- 10 (3) 上記(1)記載の蛋白質をコードするDNAを含有するDNA、
- (4) 配列番号：2で表される塩基配列を有する上記(3)記載のDNA、
- (5) 上記(3)記載のDNAを含有する組換えベクター、
- (6) 上記(5)記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体、
- (7) 上記(6)記載の形質転換体を培養し、上記(1)記載の蛋白質を生成・
- 15 蓄積せしめることを特徴とする上記(1)記載の蛋白質またはその塩の製造法、
- (8) 上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、
- (9) 上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする上記(1)記載の蛋白質またはその塩に対する
- 20 リガンドの決定方法、
- (10) 上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- (11) 上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたは
- 25 はその塩を含有することを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット、
- (12) 上記(10)記載のスクリーニング方法または上記(11)記載のス

クリーニング用キットを用いて得られうる、リガンドと上記（１）記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩、

- （１３）上記（１０）記載のスクリーニング方法または上記（１１）記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、リガンドと上記（１）記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、および

（１４）上記（３）記載のDNAとハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAなどを提供する。

より具体的には、

- （１５）蛋白質が、①配列番号：１で表わされるアミノ酸配列中の１または２個以上（好ましくは、１～３０個程度、より好ましくは１～９個程度、さらに好ましくは数個（１または２個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：１で表わされるアミノ酸配列に１または２個以上（好ましくは、１～３０個程度、より好ましくは１～１０個程度、さらに好ましくは数個（１または２個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：１で表わされるアミノ酸配列中の１または２個以上（好ましくは、１～３０個程度、より好ましくは１～１０個程度、さらに好ましくは数個（１または２個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質である上記（１）記載の蛋白質またはその塩、

- （１６）上記（１）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（２）記載の部分ペプチドもしくはその塩と、試験化合物とを接触させることを特徴とする上記（１０）記載のリガンドの決定方法、

- （１７）リガンドがアンギオテンシン、ボンベシン、カナビノイド、コレシストキニン、グルタミン、セロトニン、メラトニン、ニューロペプチドY、オピオイド、プリン、バソプレッシン、オキシトシン、PACAP、セクレチン、グルカゴン、カルシトニン、アドレノメジュリン、ソマトスタチン、GHRH、CRF、ACTH、GRP、PTH、VIP（バソアクティブ インテスティナル アンド リレイテッド ポリペプチド）、ソマトスタチン、ドーパミン、

モチリン、アミリン、ブラジキニン、CGRP（カルシトニンジーンリレーペプチド）、ロイコトリエン、パンクレアスタチン、プロスタグランジン、トロンボキサン、アデノシン、アドレナリン、 α および β -ケモカイン（chemokine）（例えば、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、ENA-78、PF4、IP10、GCP-2、MCP-1、HC14、MCP-3、I-309、MIP1 α 、MIP-1 β 、RANTESなど）、エンドセリン、エンテログastrin、ヒスタミン、ニューロテンシン、TRH、パンクレアティックポリペプチドまたはガラニンである上記（9）記載のリガンドの決定方法、

10 （18）（i）上記（1）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（2）記載の部分ペプチドもしくはその塩と、リガンドとを接触させた場合と、（ii）上記（1）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（2）記載の部分ペプチドもしくはその塩と、リガンドおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする上記（11）記載のスクリーニング方法、

15 （19）（i）標識したリガンドを上記（1）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（2）記載の部分ペプチドもしくはその塩に接触させた場合と、（ii）標識したリガンドおよび試験化合物を上記（1）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（2）記載の部分ペプチドまたはその塩に接触させた場合における、標識したリガンドの上記（1）記載の蛋白質もしくはその塩または上記（2）記載の部分ペプチドもしくはその塩に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記（1）記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

20 （20）（i）標識したリガンドを上記（1）記載の蛋白質を含有する細胞に接触させた場合と、（ii）標識したリガンドおよび試験化合物を上記（1）記載の蛋白質を含有する細胞に接触させた場合における、標識したリガンドの該細胞に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記（1）記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(21) (i) 標識したリガンドを上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞の膜画分に接触させた場合と、(ii) 標識したリガンドおよび試験化合物を上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞の膜画分に接触させた場合における、標識したリガンドの該細胞の膜画分に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(22) (i) 標識したリガンドを上記(6)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現した蛋白質に接触させた場合と、(ii) 標識したリガンドおよび試験化合物を上記(6)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現した蛋白質に接触させた場合における、標識したリガンドの該蛋白質に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(23) (i) 上記(1)記載の蛋白質またはその塩を活性化する化合物を上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞に接触させた場合と、(ii) 上記(1)記載の蛋白質またはその塩を活性化する化合物および試験化合物を上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞に接触させた場合における、蛋白質を介した細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(24) 上記(1)記載の蛋白質またはその塩を活性化する化合物を上記(6)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現した蛋白質に接触させた場合と、上記(1)記載の蛋白質またはその塩を活性化する化合物および試験化合物を上記(6)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現した蛋白質に接触させた場合における、該蛋白質を介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするリガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

- (25) 上記(1)記載の蛋白質を活性化する化合物が、アンギオテンシン、ボンベシン、カナビノイド、コレシストキニン、グルタミン、セロトニン、メラトニン、ニューロペプチドY、オピオイド、プリン、バソプレッシン、オキシトシン、PACAP、セクレチン、グルカゴン、カルシトニン、アドレノメ
5 ジュリン、ソマトスタチン、GHRH、CRF、ACTH、GRP、PTH、VIP (バソアクティブ インテスティナル アンド リレイテッド ポリペプチド)、ソマトスタチン、ドーパミン、モチリン、アミリン、ブラジキニン、CGRP (カルシトニンジーンリレーティッドペプチド)、ロイコトリエン、
10 パンクレアスタチン、プロスタグランジン、トロンボキサン、アデノシン、アドレナリン、 α および β -ケモカイン (chemokine) (例えば、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、ENA-78、PF4、IP10、GCP-2、MCP-1、HC14、MCP-3、I-309、MIP1 α 、MIP-1 β 、RANTESなど)、エンドセリン、エンテログアストリン、ヒスタミン、ニューロテンシン、TRH、パンクレアティックポリペプチドま
15 たはガラニンである上記(23)または上記(24)記載のスクリーニング方法、

(26) 上記(18)～(25)記載のスクリーニング方法で得られうる、リガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩、

- 20 (27) 上記(18)～(25)項記載のスクリーニング方法で得られうる、リガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させるの化合物またはその塩を含有することを特徴とする医薬、

(28) 上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞を含有することを特徴とする上記(11)記載のスクリーニング用キット、

- 25 (29) 上記(1)記載の蛋白質を含有する細胞の膜画分を含有することを特徴とする上記(11)記載のスクリーニング用キット、

(30) 上記(6)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現した蛋白質を含有することを特徴とする上記(11)記載のスク

リーニング用キット、

(31) 上記(28)～(30)記載のスクリーニング用キットを用いて得られる、リガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩、

- 5 (32) 上記(28)～(30)記載のスクリーニング用キットを用いて得られる、リガンドと上記(1)記載の蛋白質またはその塩との結合性を变化させる化合物またはその塩を含有することを特徴とする医薬、

(33) 上記(8)記載の抗体と、上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩とを接触させることを特徴とする上記(1)

- 10 記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩の定量法、

(34) 上記(8)記載の抗体と、被検液および標識化された上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化された上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩の割合を測定することを特徴とする被

- 15 検液中の上記(1)記載の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩の定量法、および

(35) 被検液と担体上に不溶化した上記(8)記載の抗体および標識化された上記(8)項記載の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の上記(1)記載

- 20 の蛋白質もしくは上記(2)記載の部分ペプチドまたはその塩の定量法などを提供する。

図面の簡単な説明

- 25 図1は実施例1で得られた本発明のヒト脳由来蛋白質をコードするDNAの塩基配列(AC00)、およびそれから推定されるアミノ酸配列を示す(図2に続く)。

図2は実施例1で得られた本発明のヒト脳由来蛋白質をコードするDNAの塩基配列(AC00)、およびそれから推定されるアミノ酸配列を示す(図1

の続き)。

図3は本発明のヒト脳由来蛋白質の疎水性プロットを示す。

図4は実施例2で行われたノーザンブロッティングの結果を示す図を示す。

図中、レーン1は脳を、レーン2は心臓を、レーン3は骨格筋を、レーン4は大腸を、レーン5は胸腺を、レーン6は脾臓を、レーン7は腎臓を、レーン8は肝臓を、レーン9は小腸を、レーン10は胎盤を、レーン11は肺を、レーン12は末梢血白血球をそれぞれ示す。

図5は実施例3で行われたAC00の発現組織分布の解析結果を示す。

10 発明の実施をするための最良の形態

本発明の蛋白質(G蛋白質共役型レセプター蛋白質)は、配列番号:1で表わされるアミノ酸配列〔図1～図2中のアミノ酸配列〕と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質である(以下、本発明の蛋白質(G蛋白質共役型レセプター蛋白質)またはその塩を本発明の蛋白質と略記する場合がある)。

本発明の蛋白質(G蛋白質共役型レセプター蛋白質)は、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)のあらゆる細胞(例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など)や血球系の細胞(例えば、MEL, M1, CTLL-2, HT-2, WEHI-3, HL-60, JOSK-1, K562, ML-1, MOLT-3, MOLT-4, MOLT-10, CCRF-CEM, TALL-1, Jurkat, CCRT-HSB-2, KE-37, SKW-3, HUT-78, HUT-102, H9, U937, THP-1, HEL,

JK-1, CMK, KO-812, MEG-01など)、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位(例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殻、尾状核、脳幹、黒質)、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睪丸、精巣、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など(特に、脳や脳の各部位)に由来する蛋白質であってもよく、また合成蛋白質であってもよい。

配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有する蛋白質としては、例えば、配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同質の活性を有する蛋白質などが好ましい。

実質的に同質の活性としては、例えば、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に同質であることを示す。したがって、リガンド結合活性やシグナル情報伝達作用などの活性が同等(例、約0.5~2倍)であることが好ましいが、これらの活性の程度や蛋白質の分子量などの量的要素は異なってもよい。

リガンド結合活性やシグナル情報伝達作用などの活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、後述するリガンドの決定方法やスクリーニング方法に従って測定することができる。

また、本発明の蛋白質としては、①配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号: 1で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上(好

ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：

1で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個）

- 5 のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質なども用いられる。

本明細書における蛋白質は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：1で表わされるアミノ酸配列を含有する蛋白質をはじめとする本発明の蛋白質は、C末端が通常カルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）またはカルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）
10 であるが、C末端がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）であつてもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピルもしくは n -ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

- 20 本発明の蛋白質がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明の蛋白質に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、本発明の蛋白質には、上記した蛋白質において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など）で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、アミノ基、イミダゾ

ール基、インドール基、グアニジノ基など)が適当な保護基(例えば、ホルミル基、アセチル基などの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など)で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。

- 5 本発明の蛋白質の具体例としては、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列を含有するヒト由来(より好ましくはヒト脳由来)の蛋白質などがあげられる。

本発明の蛋白質の部分ペプチド(以下、部分ペプチドと略記する場合がある)としては、前記した本発明の蛋白質の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、本発明の蛋白質分子のうち、細胞膜の外に露出している
10 部位であって、レセプター結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列を有する蛋白質の部分ペプチドとしては、〔図3〕で示される疎水性プロット解析において細胞外領域(親水性(Hydrophilic)部位)であると分析された部分を含むペプチドである。
15 また、疎水性(Hydrophobic)部位を一部に含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

本発明の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記した本発明の蛋白質の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列を有するペプチドなどが好ましい。
20 本発明の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上(好ましくは、

実質的に同一のアミノ酸配列とは、これらアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列を示す。

ここで、「実質的に同質の活性」とは、前記と同意義を示す。「実質的に同質の活性」の測定は前記と同様に行なうことができる。
25 また、本発明の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上(好ましくは、

- 1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個）のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは1～5個程度、さらに好ましくは数個（1または2個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されて
- 5 いてもよい。

また、本発明の部分ペプチドはC末端が通常カルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）またはカルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）であるが、前記した本発明の蛋白質のごとく、C末端がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）であってもよい。

- 10 さらに、本発明の部分ペプチドには、前記した本発明の蛋白質と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したGlnがピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

- 15 本発明の蛋白質またはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩
- 20 などが用いられる。

- 本発明の蛋白質またはその塩は、前述したヒトや哺乳動物の細胞または組織から自体公知の蛋白質の精製方法によって製造することもできるし、後述する本発明の蛋白質をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによっても製造することができる。また、後述の蛋白質合成法またはこれに準じて
- 25 製造することもできる。

ヒトや哺乳動物の組織または細胞から製造する場合、ヒトや哺乳動物の組織または細胞をホモジナイズした後、酸などで抽出を行ない、該抽出液を逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィー

を組み合わせることにより精製単離することができる。

本発明の蛋白質、その部分ペプチドもしくはそれらの塩またはそれらのアミド体の合成には、通常市販の蛋白質合成用樹脂を用いることができる。そのような樹脂としては、例えば、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-ヒドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-Fmocアミノエチル)フェノキシ樹脂などを挙げる
10 ことができる。このような樹脂を用い、 α -アミノ基と側鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とする蛋白質の配列通りに、自体公知の各種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させる。反応の最後に樹脂から蛋白質を切り出すと同時に各種保護基を除去し、さらに高希釈溶液中で分子内ジスルフィド結合形成反応を実施し、目的の蛋白質またはそれらのアミド体を取得する。

15 上記した保護アミノ酸の縮合に関しては、蛋白質合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としては、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが用いられる。これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤（例えば、HOBt、HOOBt）とともに保護アミノ酸を
20 直接樹脂に添加するかまたは、対称酸無水物またはHOBtエステルあるいはHOOBtエステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行なった後に樹脂に添加することができる。

保護アミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、蛋白質縮合反応に使用しうることが知られている溶媒から適宜選択されうる。例えば、
25 N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酸アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ジオキサン、テトラヒドロフランなど

のエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいはこれらの適宜の混合物などが用いられる。反応温度は蛋白質結合形成反応に使用され得ることが知られている範囲から適宜選択され、通常約 -20°C ～ 50°C の範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常1.5～4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、縮合が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく縮合反応を繰り返すことにより十分な縮合を行なうことができる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化することができる。

10 原料のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、ターシャリーペンチルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタロイル、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmocなどが用いられる。

15 カルボキシル基は、例えば、アルキルエステル化（例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ターシャリーブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、2-アダマンチルなどの直鎖状、分枝状もしくは環状アルキルエステル化）、アラルキルエステル化（例えば、ベンジルエステル、4-ニトロベンジルエステル、4-メトキシベンジルエステル、4-クロロベンジルエステル、ベンズヒドリルエステル化）、フェナシルエステル化、ベンジルオキシカルボニルヒドラジド化、ターシャリーブトキシカルボニルヒドラジド化、トリチルヒドラジド化などによって保護することができる。

セリンの水酸基は、例えば、エステル化またはエーテル化によって保護することができる。このエステル化に適する基としては、例えば、アセチル基などの低級アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイル基、ベンジルオキシカルボニル基、エトキシカルボニル基などの炭酸から誘導される基などが用いられる。また、エーテル化に適する基としては、例えば、ベンジル基、テトラヒドロピラニル基、t-ブチル基などである。

チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えば、Bzl、Cl₂-Bzl、2-ニトロベンジル、Br-Z、ターシャリーブチルなどが用いられる。

ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、例えば、Tos、4-メトキシ-2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc、
5 Trt、Fmocなどが用いられる。

原料のカルボキシル基の活性化されたものとしては、例えば、対応する酸無水物、アジド、活性エステル〔アルコール（例えば、ペンタクロロフェノール、2,4,5-トリクロロフェノール、2,4-ジニトロフェノール、シアノメチルアルコール、パラニトロフェノール、HONB、N-ヒドロキシスクシミド、N-ヒドロキシ
10 フタルイミド、HOBt）とのエステル〕などが用いられる。原料のアミノ基の活性化されたものとしては、例えば、対応するリン酸アミドが用いられる。

保護基の除去（脱離）方法としては、例えば、Pd-黒あるいはPd-炭素などの触媒の存在下での水素気流中での接触還元や、また、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいは
15 これらの混合液などによる酸処理や、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン、ピペラジンなどによる塩基処理、また液体アンモニア中ナトリウムによる還元なども用いられる。上記酸処理による脱離反応は、一般に約-20℃～40℃の温度で行なわれるが、酸処理においては、例えば、アニソール、フェノール、チオアニソール、メタクレゾール、パラクレゾール、
20 ジメチルスルフィド、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなどのようなカチオン捕捉剤の添加が有効である。また、ヒスチジンのイミダゾール保護基として用いられる2,4-ジニトロフェニル基はチオフェノール処理により除去され、トリプトファンのインドール保護基として用いられるホルミル基は上記の1,2-エタンジチオール、1,4-ブタンジチオールなどの存在下の酸処理による脱保護以外に、希水酸化ナトリウム溶液、希アンモニアなどによるアルカリ
25 処理によっても除去される。

原料の反応に関与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に関与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段

から適宜選択しうる。

蛋白質のアミド体を得る別の方法としては、例えば、まず、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基をアミド化して保護した後、アミノ基側にペプチド（蛋白質）鎖を所望の鎖長まで延ばした後、該ペプチド鎖のN末端の α -アミノ基の保護基のみを除いた蛋白質とC末端のカルボキシル基の保護基のみを除去した蛋白質とを製造し、この両蛋白質を上記したような混合溶媒中で縮合させる。縮合反応の詳細については上記と同様である。縮合により得られた保護蛋白質を精製した後、上記方法によりすべての保護基を除去し、所望の粗蛋白質を得ることができる。この粗蛋白質は既知の各種精製手段を駆使して精製し、主要画分を凍結乾燥することで所望の蛋白質のアミド体を得ることができる。

蛋白質のエステル体を得るには、例えば、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基を所望のアルコール類と縮合しアミノ酸エステルとした後、蛋白質のアミド体と同様にして、所望の蛋白質のエステル体を得ることができる。

本発明の蛋白質の部分ペプチドまたはその塩は、自体公知のペプチドの合成法に従って、あるいは本発明の蛋白質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。ペプチドの合成法としては、例えば、固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。すなわち、本発明の蛋白質を構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを縮合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造することができる。公知の縮合方法や保護基の脱離としては、例えば、以下の①～⑤に記載された方法が挙げられる。

①M. Bodanszky および M. A. Ondetti、ペプチド シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publishers, New York (1966年)

②SchroederおよびLuebke、ザ ペプチド(The Peptide), Academic Press, New York (1965年)

③泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株) (1975年)

④矢島治明 および榊原俊平、生化学実験講座 1、蛋白質の化学IV、205、(1977

年)

⑤矢島治明監修、続医薬品の開発 第14巻 ペプチド合成 広川書店

また、反応後は通常の前製法、たとえば、溶媒抽出・蒸留・カラムクロマト
5 グラフィー・液体クロマトグラフィー・再結晶などを組み合わせて本発明の部
分ペプチドを精製単離することができる。上記方法で得られる部分ペプチドが
遊離体である場合は、公知の方法によって適当な塩に変換することができるし、
逆に塩で得られた場合は、公知の方法によって遊離体に変換することができる。

本発明の蛋白質をコードするDNAとしては、前述した本発明の蛋白質をコ
ードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、
10 ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA
A、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれで
もよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミ
ド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・
組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse
15 Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR法と略称する)
によって増幅することもできる。

具体的には、本発明の蛋白質をコードするDNAとしては、例えば、配列番
号：2で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：2で表わさ
れる塩基配列を有するDNAとハイストリンジェントな条件下でハイブリダイ
20 ズするDNAを有し、本発明の蛋白質と実質的に同質の活性（例、リガンド結
合活性、シグナル情報伝達作用など）を有する蛋白質をコードするDNAであ
れば何れのものでもよい。

配列番号：2で表わされる塩基配列を有するDNAとハイストリンジェント
な条件下でハイブリダイズするDNAとしては、例えば、配列番号：2で表わ
25 される塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約
90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有
するDNAなどが用いられる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例

例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリン

5 ジェントな条件に従って行なうことができる。

ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約 19 ~ 40 mM、好ましくは約 19 ~ 20 mM で、温度が約 50 ~ 70 °C、好ましくは約 60 ~ 65 °C の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約 19 mM で温度が約 65 °C の場合が最も好ましい。

10 より具体的には、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列を含有する蛋白質をコードする DNA としては、配列番号：2 で表わされる塩基配列を有する DNA があげられる。

本発明の蛋白質をコードする塩基配列を含有する、または該塩基配列と相補的な塩基配列の一部を含有してなるヌクレオチド (オリゴヌクレオチド) とは、

15 本発明の蛋白質またはその部分ペプチドをコードする DNA を包含するだけではなく、RNA をも包含する意味で用いられる。

本発明に従えば、本発明の蛋白質遺伝子の複製又は発現を阻害することのできるアンチセンス・(オリゴ)ヌクレオチド (核酸) を、クローン化したあるいは決定された蛋白質をコードする塩基配列の塩基配列情報に基づき設計し、

20 合成しうる。そうした (オリゴ)ヌクレオチド (核酸) は、G 蛋白質共役型蛋白質遺伝子の RNA とハイブリダイズすることができ、該 RNA の合成又は機能を阻害することができるか、あるいは G 蛋白質共役型蛋白質関連 RNA との相互作用を介して G 蛋白質共役型蛋白質遺伝子の発現を調節・制御することができる。G 蛋白質共役型蛋白質関連 RNA の選択された配列に相補的な (オリ

25 ゴ)ヌクレオチド、及び G 蛋白質共役型蛋白質関連 RNA と特異的にハイブリダイズすることができる (オリゴ)ヌクレオチドは、生体内及び生体外で G 蛋白質共役型蛋白質遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療又は診断に有用である。

用語「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド、塩基配列又は核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド、塩基配列又は核酸とペプチド（蛋白質）との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列又はその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。G蛋白質共役型蛋白質遺伝子の5'端ヘアピンループ、5'端6-ベースペア・リピート、5'端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、ORF翻訳開始コドン、3'端非翻訳領域、3'端パ lindローム領域、及び3'端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、G蛋白質共役型蛋白質遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的な（オリゴ）ヌクレオチドとの関係は、対象物とハイブリダイズすることができる（オリゴ）ヌクレオチドとの関係は、「アンチセンス」であるといふことができる。アンチセンス・（オリゴ）ヌクレオチドは、2-デオキシ-D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、プリン又はピリミジン塩基のN-グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸及び合成配列特異的な核酸ポリマー）又は特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリナグや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド又は非修飾オリゴヌクレオチド、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合又は硫黄含有結合（例

例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、例えば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーラーリジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターカレント化合物（例えば、アクリジン、
5 プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、 α アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」及び「核酸」とは、プリン及びピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリン及びピリミジン、アシル化されたプリン及びピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。修飾されたヌクレオチド及び修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、
10 アミンなどの官能基に変換されていてよい。

本発明のアンチセンス核酸は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、
20 そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al.,
25 Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 などに開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、

結合を含有していて良く、リポソーム、ミク로스フェアのような特殊な形態で
供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられる
ことができる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格
の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との
5 相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホス
ホリピッド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加
するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレス
テリルクロロホルメート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核
酸の3'端あるいは5'端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレ
10 オシド結合を介して付着させることができる。その他の基としては、核酸の
3'端あるいは5'端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレ
アーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙
げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリエチレングリコール、テト
ラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水
15 酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生
体外の遺伝子発現系、あるいは蛋白質の生体内や生体外の翻訳系を用いて調べ
ることができる。該核酸其れ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

本発明の部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述した本発明の部分
20 ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであつて
もよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組
織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成D
NAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファ
ージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、
25 前記した細胞・組織よりmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse
Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）
によって増幅することもできる。

具体的には、本発明の部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、

配列番号：2で表わされる塩基配列を有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または②配列番号：2で表わされる塩基配列を有するDNAとハイストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAを有し、本発明の蛋白質ペプチドと実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用など）を有する蛋白質をコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

配列番号：2で表わされる塩基配列を有するDNAとハイストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAとしては、例えば、配列番号：2で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上、なかでも好ましくは約98%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

本発明の蛋白質またはその部分ペプチド（以下、本発明の蛋白質と略記する）を完全にコードするDNAのクローニングの手段としては、本発明の蛋白質の部分塩基配列を有する合成DNAプライマーを用いてPCR法によって増幅するか、または適当なベクターに組み込んだDNAを本発明の蛋白質の一部あるいは全領域をコードするDNA断片もしくは合成DNAを用いて標識したもののハイブリダイゼーションによって選別することができる。ハイブリダイゼーションの方法は、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。

DNAの塩基配列の変換は、PCRや公知のキット、例えば、MutanTM-super Express Km（宝酒造（株））、MutanTM-K（宝酒造（株））等を用いて、ODA-LA PCR法、Gapped duplex法やKunkel法等の自体公知の方法あるいはそれらに準じる方法に従って行なうことができる。

クローン化された蛋白質をコードするDNAは目的によりそのまま、または所望により制限酵素で消化したり、リンカーを付加したりして使用することができる。該DNAはその5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、

また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合成DNAアダプターを用いて付加することもできる。

5 本発明の蛋白質の発現ベクターは、例えば、(イ)本発明の蛋白質をコードするDNAから目的とするDNA断片を切り出し、(ロ)該DNA断片を適当な発現ベクター中のプロモーターの下流に連結することにより製造することができる。

ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド(例、pBR322、pBR325、pUC12、pUC13)、枯草菌由来のプラスミド(例、pUB110、pTP5、pC194)、酵母由来プラスミド(例、pSH19、pSH15)、 λ ファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどの他、pA1-11、pXT1、pRc/CMV、pRc/RSV、pcDNA1/Neoなどが用いられる。

15 本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応して適切なプロモーターであればいかなるものでもよい。例えば、動物細胞を宿主として用いる場合は、SR α プロモーター、SV40プロモーター、HIV-LTRプロモーター、CMVプロモーター、HSV-TKプロモーターなどが挙げられる。

20 これらのうち、CMVプロモーター、SR α プロモーターなどを用いるのが好ましい。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、recAプロモーター、 λ P_Lプロモーター、lppプロモーターなどが、宿主がバチルス属菌である場合は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、25 PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。宿主が昆虫細胞である場合は、ポリヘドリンプロモーター、P10プロモーターなどが好ましい。

発現ベクターには、以上の他に、所望によりエンハンサー、スプライシング

シグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー、SV40複製オリジン（以下、SV40 ori と略称する場合がある）などを含有しているものを用いることができる。選択マーカーとしては、例えば、ジヒドロ葉酸還元酵素（以下、dhfr と略称する場合がある）遺伝子〔メソトレキセート（MTX）耐性〕、

5 アンピシリン耐性遺伝子（以下、Amp^r と略称する場合がある）、ネオマイシン耐性遺伝子（以下、Neo^r と略称する場合がある、G418耐性）等が挙げられる。特に、CHO（dhfr⁻）細胞を用いて dhfr 遺伝子を選択マーカーとして使用する場合、目的遺伝子をチミジンを含まない培地によっても選択できる。

- 10 また、必要に応じて、宿主に合ったシグナル配列を、本発明の蛋白質のN端末側に付加する。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、PhoA・シグナル配列、OmpA・シグナル配列などが、宿主がバチルス属菌である場合は、 α -アミラーゼ・シグナル配列、サブチリシン・シグナル配列などが、宿主が酵母である場合は、MF α ・シグナル配列、SUC2・シグナル配列など、宿主が動物細胞
- 15 である場合には、インシュリン・シグナル配列、 α -インターフェロン・シグナル配列、抗体分子・シグナル配列などがそれぞれ利用できる。

このようにして構築された本発明の蛋白質をコードするDNAを含有するベクターを用いて、形質転換体を製造することができる。

- 宿主としては、例えば、エシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、
- 20 昆虫、動物細胞などが用いられる。

- エシェリヒア属菌の具体例としては、エシェリヒア・コリ (Escherichia coli) K12・DH1〔プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 60巻, 160(1968)], JM103〔ヌクイレック・アシズ・リサーチ, (Nucleic Acids Research), 9巻, 309(1981)], JA2
- 25 21〔ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (Journal of Molecular Biology)], 120巻, 517(1978)], HB101〔ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 41巻, 459(1969)], C600〔ジェ

ネティックス (Genetics), 39巻, 440(1954)] などが用いられる。

バチルス属菌としては、例えば、バチルス・サチルス (*Bacillus subtilis*) MI114 [ジーン, 24巻, 255(1983)], 207-21 [ジャーナル・オブ・バイオケミストリー (*Journal of Biochemistry*), 95巻, 87(1984)] などが用いられる。

酵母としては、例えば、サッカロマイセス セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) AH22, AH22R⁻, NA87-11A, DKD-5D, 20B-12, シゾサッカロマイセス ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) NCYC1913, NCYC2036, ピキア パストリス (*Pichia pastoris*) などが用いられる。

昆虫細胞としては、例えば、ウイルスがAcNPVの場合は、夜盗蛾の幼虫由来株化細胞 (*Spodoptera frugiperda* cell; Sf細胞)、*Trichoplusia ni*の中腸由来のMG1細胞、*Trichoplusia ni*の卵由来のHigh FiveTM細胞、*Mamestra brassicae*由来の細胞または*Estigmena acrea*由来の細胞などが用いられる。ウイルスがBmNPVの場合は、蚕由来株化細胞 (*Bombyx mori* N; BmN細胞) などが用いられる。該Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞 (ATCC CRL1711)、Sf21細胞 (以上、Vaughn, J.L. ら、イン・ヴィボ (*In Vivo*), 13, 213-217, (1977)) などが用いられる。

昆虫としては、例えば、カイコの幼虫などが用いられる [前田ら、ネイチャー (*Nature*), 315巻, 592(1985)]。

動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7, Vero, チャイニーズハムスター細胞CHO (以下、CHO細胞と略記), dhfr遺伝子欠損チャイニーズハムスター細胞CHO (以下、CHO (dhfr⁻) 細胞と略記), マウスL細胞, マウスAtT-20, マウスミエローマ細胞, ラットGH3, ヒトFL細胞などが用いられる。

エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えば、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*), 69巻, 2110(1972)やジーン

(Gene), 17巻, 107(1982)などに記載の方法に従って行なうことができる。バチルス属菌を形質転換するには、例えば、モレキュラー・アンド・ジェネラル・ジェネティックス (Molecular & General Genetics), 168巻, 111(1979)などに記載の方法に従って行なうことができる。

- 5 酵母を形質転換するには、例えば、メソズ・イン・エンザイモロジー (Methods in Enzymology), 194巻, 182-187(1991)、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 75巻, 1929(1978)などに記載の方法に従って行なうことができる。

- 10 昆虫細胞または昆虫を形質転換するには、例えば、バイオ／テクノロジー (Bio/Technology), 6, 47-55(1988)などに記載の方法に従って行なうことができる。

動物細胞を形質転換するには、例えば、細胞工学別冊8 新 細胞工学実験プロトコル, 263-267(1995) (秀潤社発行)、ヴィロロジー

- 15 (Virology), 52巻, 456(1973)に記載の方法に従って行なうことができる。

このようにして、G蛋白質共役型蛋白質をコードするDNAを含有する発現ベクターで形質転換された形質転換体を得られる。

- 20 宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際、培養に使用される培地としては液体培地が適当であり、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他が含有せしめられる。炭素源としては、例えば、グルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖など、窒素源としては、例えば、アンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチープ・リカー、ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、バレイショ抽出液などの無機または
- 25 有機物質、無機物としては、例えば、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを添加してもよい。培地のpHは約5~8が望ましい。

エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えば、グルコース、カザ

ミノ酸を含むM9培地〔ミラー (Miller) , ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス (Journal of Experiments in Molecular Genetics) , 431-433, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1972〕が好ましい。ここに必要によりプロモーターを効率よく働かせるために、例えば、3 β -インドリル アクリル酸のような薬剤を加えることができる。

宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約15~43℃で約3~24時間行ない、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。

10 宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約30~40℃で約6~24時間行ない、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、バークホルダー (Burkholder) 最小培地 [Bostian, K. L. ら、「プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) , 77巻, 4505(1980)]
15 や0.5%カザミノ酸を含有するSD培地 [Bitter, G. A. ら、「プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) , 81巻, 5330(1984)] が挙げられる。培地のpHは約5~8に調整するのが好ましい。培養は通常約20℃~35℃で約24~72時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を
20 加える。

宿主が昆虫細胞または昆虫である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect Medium (Grace, T. C. C., ネイチャー (Nature) , 195, 788(1962)) に非動化した10%ウシ血清等の添加物を適宜加えたものなどが用いられる。培地のpHは約6.2~6.4に調整するのが好ましい。培養は通常約27℃
25 で約3~5日間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、約5~20%の胎児牛血清を含むMEM培地〔サイエンス (Science) , 122巻, 501(1952)] , DMEM培地〔ヴィロロジー (Virology) , 8巻, 39

6 (1959)], RPMI 1640 培地 [ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・
メディカル・アソシエーション (The Journal of the American Medical
Association) 199 巻, 519 (1967)], 199 培地 [プロシーディング・
オブ・ザ・ソサイエティ・フォー・ザ・バイオロジカル・メディシン (Proceeding
5 of the Society for the Biological Medicine), 73 巻, 1 (1950)] な
どが用いられる。pH は約 6 ~ 8 であるのが好ましい。培養は通常約 30℃ ~
40℃ で約 15 ~ 60 時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

以上のようにして、形質転換体の細胞内、細胞膜または細胞外に本発明の G
蛋白質共役型蛋白質を生成せしめることができる。

10 上記培養物から本発明の蛋白質を分離精製するには、例えば、下記の方法に
より行なうことができる。

本発明の蛋白質を培養菌体あるいは細胞から抽出するに際しては、培養後、
公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁し、超音波、
リゾチームおよび/または凍結融解などによって菌体あるいは細胞を破壊した
15 のち、遠心分離やろ過により蛋白質の粗抽出液を得る方法などが適宜用いられ
る。緩衝液の中に尿素や塩酸グアニジンなどの蛋白質変性剤や、トリトン X-
100™ などの界面活性剤が含まれていてもよい。培養液中に蛋白質が分泌さ
れる場合には、培養終了後、それ自体公知の方法で菌体あるいは細胞と上清と
を分離し、上清を集める。

20 このようにして得られた培養上清、あるいは抽出液中に含まれる蛋白質の精
製は、自体公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行なうことができる。こ
れらの公知の分離、精製法としては、塩析や溶媒沈澱法などの溶解度を利用す
る方法、透析法、限外ろ過法、ゲルろ過法、および SDS-ポリアクリルアミ
ドゲル電気泳動法などの主として分子量の差を利用する方法、イオン交換クロ
25 マトグラフィーなどの荷電の差を利用する方法、アフィニティークロマトグラ
フィーなどの特異的親和性を利用する方法、逆相高速液体クロマトグラフィー
などの疎水性の差を利用する方法、等電点電気泳動法などの等電点の差を利用
する方法などが用いられる。

かくして得られる蛋白質が遊離体で得られた場合には、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または他の塩に変換することができる。

5 なお、組換え体が産生する蛋白質を、精製前または精製後に適当な蛋白修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり、ポリペプチドを部分的に除去することもできる。蛋白修飾酵素としては、例えば、トリプシン、キモトリプシン、アルギニルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グリコシダーゼなどが用いられる。

10 かくして生成する本発明の蛋白質またはその塩の活性は、標識したリガンドとの結合実験および特異抗体を用いたエンザイムイムノアッセイなどにより測定することができる。

本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩に対する抗体は、本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩を認識し得る抗体であれば、
15 ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体の何れであってもよい。

本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩（以下、本発明の蛋白質等と略記する）に対する抗体は、本発明の蛋白質等を抗原として用い、自体公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。

〔モノクローナル抗体の作製〕

20 (a) モノクローナル抗体産生細胞の作製

本発明の蛋白質等は、哺乳動物に対して投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は通常2～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行な
25 われる。用いられる哺乳動物としては、例えば、サル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギが挙げられるが、マウスおよびラットが好ましく用いられる。

モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原を免疫された温血動物、

例えば、マウスから抗体価の認められた個体を選択し最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば、後記の標識化した本発明の

5 蛋白質等と抗血清とを反応させたのち、抗体に結合した標識剤の活性を測定することにより行なうことができる。融合操作は既知の方法、例えば、ケーラーとミルスタインの方法〔ネイチャー (Nature)、256巻、495頁(1975年)〕に従い実施することができる。融合促進剤としては、例えば、ポリエチレングリコール (PEG) やセンダイウィルスなどが挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。

10

骨髓腫細胞としては、例えば、NS-1、P3U1、SP2/0などが挙げられるが、P3U1が好ましく用いられる。用いられる抗体産生細胞（脾臓細胞）数と骨髓腫細胞数との好ましい比率は1:1～20:1程度であり、PEG（好ましくは、PEG1000～PEG6000）が10～80%程度の濃度で添加され、約20～40℃、好ましくは約30～37℃で約1～10分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。

15

モノクローナル抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、本発明の蛋白質等抗原を直接あるいは担体とともに吸着させた固相（例、マイクロプレート）にハイブリドーマ培養上清を添加し、

20 次に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体（細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる）またはプロテインAを加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ培養上清を添加し、放射性物質や酵素などで標識した本発明の蛋白質等を加え、

25 固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法などが挙げられる。

モノクローナル抗体の選別は、自体公知あるいはそれに準じる方法に従って行なうことができるが、通常はHAT（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）を添加した動物細胞用培地などで行なうことができる。選別および育

種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1～20%、好ましくは10～20%の牛胎児血清を含むRPMI 1640培地、1～10%の牛胎児血清を含むGIT培地（和光純薬工業（株））またはハイブリドーマ培養用無血清培地（SFM-101、
5 日水製薬（株））などを用いることができる。培養温度は、通常20～40℃、好ましくは約37℃である。培養時間は、通常5日～3週間、好ましくは1週間～2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行なうことができる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。

10 (b) モノクローナル抗体の精製

モノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法〔例、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換体（例、DEAE）による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原結合固相またはプロテインAあるいはプロテインGなどの
15 の活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法〕に従って行なうことができる。

〔ポリクローナル抗体の作製〕

本発明のポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法にしたがって製造することができる。例えば、免疫抗原（本発明の蛋白質等抗原）
20 とキャリアー蛋白質との複合体をつくり、上記のモノクローナル抗体の製造法と同様に哺乳動物に免疫を行ない、該免疫動物から本発明の蛋白質等に対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行なうことにより製造できる。

哺乳動物を免疫するために用いられる免疫抗原とキャリアー蛋白質との複合体に関し、キャリアー蛋白質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、
25 キャリアーに架橋させて免疫したハプテンに対して抗体が効率良くできれば、どのようなものをどのような比率で架橋させてもよいが、例えば、ウシ血清アルブミン、ウシサイログロブリン、キーホール・リンペット・ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカプル

させる方法が用いられる。

また、ハプテンとキャリアーのカプリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオビリジル基を含有する活性エステル試薬等が用いられる。

- 5 縮合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は、通常約2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行なうことができる。

- 10 ポリクローナル抗体は、上記の方法で免疫された哺乳動物の血液、腹水など、好ましくは血液から採取することができる。

抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記の血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行なうことができる。

15

- 本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、およびそれらをコードするDNAは、①本発明の蛋白質に対するリガンドの決定方法、②抗体および抗血清の入手、③組換え型蛋白質の発現系の構築、④同発現系を用いたレセプター結合アッセイ系の開発と医薬品候補化合物のスクリーニング、⑤構造的に類似したリガンド・レセプターとの比較にもとづいたドラッグデザインの実施、⑥遺伝子診断におけるプローブやPCRプライマーを作成するための試薬、⑦トランスジェニック動物の作製または⑧遺伝子予防・治療剤等の医薬などとして用いることができる。

- 25 特に、本発明の組換え型蛋白質の発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、ヒトや哺乳動物に特異的なG蛋白質共役型レセプターに対するリガンドの結合性を変化させる化合物（例、アゴニスト、アンタゴニストなど）をスクリーニングすることができ、該アゴニストまたはアンタゴニ

ストを各種疾病の予防・治療剤などとして使用することができる。

本発明の蛋白質、部分ペプチドまたはそれらの塩（以下、本発明の蛋白質等と略記する場合がある）、本発明の蛋白質またはその部分ペプチドをコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）および本発明の蛋白質等に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する場合がある）の用途について、以下に具体的に説明する。

（１）本発明の蛋白質に対するリガンド（アゴニスト）の決定方法

本発明の蛋白質もしくはその塩または本発明の部分ペプチドもしくはその塩は、本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンド（アゴニスト）を探索し、
10 または決定するための試薬として有用である。

すなわち、本発明は、本発明の蛋白質もしくはその塩または本発明の部分ペプチドもしくはその塩と、試験化合物とを接触させることを特徴とする本発明の蛋白質に対するリガンドの決定方法を提供する。

試験化合物としては、公知のリガンド（例えば、アンギオテンシン、ボンベ
15 シン、カナビノイド、コレシストキニン、グルタミン、セロトニン、メラトニン、ニューロペプチドY、オピオイド、プリン、バソプレッシン、オキシトシン、PACAP、セクレチン、グルカゴン、カルシトニン、アドレノメジュリン、ソマトスタチン、GHRH、CRF、ACTH、GRP、PTH、VIP
（バソアクティブ インテスティナル アンド リレイテッド ポリペプチ
20 ド）、ソマトスタチン、ドーパミン、モチリン、アミリン、ブラジキニン、CGRP（カルシトニンジーンリレーティッドペプチド）、ロイコトリエン、パ
ンクレアスタチン、プロスタグランジン、トロンボキサン、アデノシン、アド
レナリン、 α および β -ケモカイン（chemokine）（例えば、IL-8、GRO
 α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、ENA-78、PF4、IP10、G
25 CP-2、MCP-1、HC14、MCP-3、I-309、MIP1 α 、M
IP-1 β 、RANTESなど）、エンドセリン、エンテログアストリン、ヒス
タミン、ニューロテンシン、TRH、パンクレアティックポリペプチドまたは
ガラニンなどがあげられ、またその他に、例えば、ヒトまたは哺乳動物（例

例えば、マウス、ラット、ブタ、ウシ、ヒツジ、サルなど）の組織抽出物、細胞培養上清などが用いられる。例えば、該組織抽出物、細胞培養上清などを本発明の蛋白質に添加し、細胞刺激活性などを測定しながら分画し、最終的に単一のリガンドを得ることができる。

- 5 具体的には、本発明のリガンド決定方法は、本発明の蛋白質、その部分ペプチドもしくはそれらの塩を用いるか、または組換え型蛋白質の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、本発明の蛋白質に結合して細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシ
- 10 トールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos 活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性）を有する化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を決定する方法である。

- 15 本発明のリガンド決定方法においては、本発明の蛋白質またはその部分ペプチドと試験化合物とを接触させた場合の、例えば、該蛋白質または該部分ペプチドに対する試験化合物の結合量や、細胞刺激活性などを測定することを特徴とする。

- 20 より具体的には、本発明は、①標識した試験化合物を、本発明の蛋白質もしくはその塩または本発明の部分ペプチドもしくはその塩に接触させた場合における、標識した試験化合物の該蛋白質もしくはその塩、または該部分ペプチドもしくはその塩に対する結合量を測定することを特徴とする本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法、

- 25 ②標識した試験化合物を、本発明の蛋白質を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識した試験化合物の該細胞または該膜画分に対する結合量を測定することを特徴とする本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法、

③標識した試験化合物を、本発明の蛋白質をコードする DNA を含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した蛋白質に接触させた場合に

おける、標識した試験化合物の該蛋白質またはその塩に対する結合量を測定することを特徴とする本発明の蛋白質に対するリガンドの決定方法、

- ④試験化合物を、本発明の蛋白質を含有する細胞に接触させた場合における、蛋白質を介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定することを特徴とする本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法、および
- ⑤試験化合物を、本発明の蛋白質をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した蛋白質に接触させた場合における、蛋白質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定することを特徴とする本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法を提供する。

特に、上記①～③の試験を行ない、試験化合物が本発明の蛋白質に結合することを確認した後に、上記④～⑤の試験を行なうことが好ましい。

- まず、リガンド決定方法に用いる蛋白質としては、前記した本発明の蛋白質または本発明の部分ペプチドを含有するものであれば何れのものであってもよいが、動物細胞を用いて大量発現させた蛋白質が適している。

- 本発明の蛋白質を製造するには、前述の発現方法が用いられるが、該蛋白質をコードするDNAを哺乳動物細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には、通常、相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。本発明の蛋白質をコードするDNA断片を宿主動物細胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DN

A断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス

(nuclear polyhedrosis virus ; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV
40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネイン
5 プロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロ
モーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現した
レセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、
文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー
(J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行
うことができる。

- 10 したがって、本発明のリガンド決定方法において、本発明の蛋白質、その部
分ペプチドまたはそれらの塩を含有するものとしては、それ自体公知の方法に
従って精製した蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩であってもよいし、
該蛋白質を含有する細胞またはその細胞膜画分を用いてもよい。

- 15 本発明のリガンド決定方法において、本発明の蛋白質を含有する細胞を用い
る場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。
固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

本発明の蛋白質を含有する細胞としては、本発明の蛋白質を発現した宿主細
胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細
胞などが用いられる。

- 20 細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細
胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-
Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポ
リトロン (Kinematica社製) による破碎、超音波による破碎、フレンチプレス
などで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙
25 げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠
心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500
rpm~3000rpm) で短時間 (通常、約1分~10分) 遠心し、上清を
さらに高速 (15000rpm~30000rpm) で通常30分~2時間遠

心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現した蛋白質と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

該蛋白質を含有する細胞やその膜画分中の蛋白質の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのリガンド結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドを決定する前記の①～③の方法を実施するためには、適当な蛋白質画分と、標識した試験化合物が必要である。

蛋白質画分としては、天然型のレセプター蛋白質画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型レセプター画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

標識した試験化合物としては、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識したアンギオテンシン、ボンベシン、カナビノイド、コレシストキニン、グルタミン、セロトニン、メラトニン、ニューロペプチドY、オピオイド、プリン、バソプレッシン、オキシトシン、PACAP、セクレチン、グルカゴン、カルシトニン、アドレノメジュリン、ソマトスタチン、GHRH、CRF、ACTH、GRP、PTH、VIP（バソアクティブ インテスティナル アンド リイテッド ポリペプチド）、ソマトスタチン、ドーパミン、モチリン、アミリン、ブラジキニン、CGRP（カルシトニンジーンリレーティッドペプチド）、ロイコトリエン、パンクレアスタチン、プロスタグランジン、トロンボキサン、アデノシン、アドレナリン、 α および β -ケモカイン（chemokine）（例えば、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、ENA-78、PF4、IP10、GCP-2、MCP-1、HC14、MCP-3、I-309、MIP1 α 、MIP-1 β 、RANTESなど）、エンドセリン、エンテロガストリン、ヒスタミン、ニューロテンシン、TRH、パンクレアティックポリペプチド、ガラニンなどが好適である。

具体的には、本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法を行なうには、まず本発明の蛋白質を含有する細胞または細胞の膜画分を、決定方法に適したバッファーに懸濁することによりレセプター標品を調製する。バッファーには、pH 4～10（望ましくはpH 6～8）のリン酸バッファー、トリス-塩酸バッファーなどのリガンドと本発明の蛋白質との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80TM（花王-アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤やウシ血清アルブミンやゼラチンなどの各種蛋白質をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるレセプターやリガンドの分解を抑える目的でPMSF、ロイペプチン、E-64（ペプチド研究所製）、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01ml～10mlの該レセプター溶液に、一定量（5000cpm～500000cpm）の $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識した試験化合物を共存させる。非特異的結合量（NSB）を知るために大過剰の未標識の試験化合物を加えた反応チューブも用意する。反応は約0℃から50℃、望ましくは約4℃から37℃で、約20分から24時間、望ましくは約30分から3時間行なう。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターあるいはγ-カウンターで計測する。全結合量（B）から非特異的結合量（NSB）を引いたカウント（B-NSB）が0cpmを越える試験化合物を本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンド（アゴニスト）として選択することができる。

本発明の蛋白質またはその塩に対するリガンドを決定する前記の④～⑤の方法を実施するためには、該蛋白質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することが

- できる。具体的には、まず、本発明の蛋白質を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。リガンド決定を行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

本発明の蛋白質またはその塩に結合するリガンド決定用キットは、本発明の蛋白質もしくはその塩、本発明の部分ペプチドもしくはその塩、本発明の蛋白質を含有する細胞、または本発明の蛋白質を含有する細胞の膜画分などを含有するものである。

- 15 本発明のリガンド決定用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. リガンド決定用試薬

①測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

- 20 孔径0.45 μ mのフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

②G蛋白質共役型レセプター蛋白質標品

本発明の蛋白質を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに 5×10^5 個/穴で継代し、37℃、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

- 25 ③標識試験化合物

市販の [³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S]などで標識した化合物、または適当な方法で標識化したもの

水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝

液にて1 μ Mに希釈する。水に難溶性を示す試験化合物については、ジメチルホルムアミド、DMSO、メタノール等に溶解する。

④非標識試験化合物

標識化合物と同じものを100～1000倍濃い濃度に調製する。

5 2. 測定法

①12穴組織培養用プレートにて培養した本発明の蛋白質発現CHO細胞を、測定用緩衝液1mlで2回洗浄した後、490 μ lの測定用緩衝液を各穴に加える。

②標識試験化合物を5 μ l加え、室温にて1時間反応させる。非特異的結合量を知るためには非標識試験化合物を5 μ l加えておく。

③反応液を除去し、1mlの洗浄用緩衝液で3回洗浄する。細胞に結合した標識試験化合物を0.2N NaOH-1%SDSで溶解し、4mlの液体シンチレーターA（和光純薬製）と混合する。

④液体シンチレーションカウンター（ベックマン社製）を用いて放射活性を測定する。

本発明の蛋白質またはその塩に結合することができるリガンドとしては、例えば、脳、下垂体、膵臓などに特異的に存在する物質などが挙げられ、具体的には、アンギオテンシン、ボンベシン、カナビノイド、コレシストキニン、グルタミン、セロトニン、メラトニン、ニューロペプチドY、オピオイド、プリン、バソプレッシン、オキシトシン、PACAP、セクレチン、グルカゴン、カルシトニン、アドレノメジュリン、ソマトスタチン、GHRH、CRF、ACTH、GRP、PTH、VIP（バソアクティブ インテスティナル アン ド リレイテッド ポリペプチド）、ソマトスタチン、ドーパミン、モチリン、アミリン、ブラジキニン、CGRP（カルシトニンジーンリレーティッドペプチド）、ロイコトリエン、パンクレアスタチン、プロスタグランジン、トロンボキサン、アデノシン、アドレナリン、 α および β -ケモカイン（chemokine）（例えば、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、ENA-78、PF4、IP10、GCP-2、MCP-1、HC14、MCP-3、

I-309、MIP1 α 、MIP-1 β 、RANTESなど)、エンドセリン、エンテロガストリン、ヒスタミン、ニューロテンシン、TRH、パンクレアティックポリペプチド、ガラニンなどが用いられる。

(2) 本発明の蛋白質欠乏症の予防・治療剤

- 5 上記(1)の方法において、本発明の蛋白質に対するリガンドが明らかになれば、該リガンドが有する作用に応じて、①本発明の蛋白質または②該蛋白質をコードするDNAを、本発明の蛋白質の機能不全に関連する疾患の予防および/または治療剤などの医薬として使用することができる。

- 例えば、生体内において本発明の蛋白質が減少しているためにリガンドの生理作用が期待できない(該蛋白質の欠乏症)患者がいる場合に、①本発明の蛋白質を該患者に投与し該蛋白質の量を補充したり、②(イ)本発明の蛋白質をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ)対象となる細胞に本発明の蛋白質をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体内における蛋白質の量を増加させ、リガンドの作用を十分に発揮させることができる。したがって、
10 本発明の蛋白質をコードするDNAは、安全で低毒性な本発明のレセプター蛋白質の機能不全に関連する疾患の予防および/または治療剤などの医薬として有用である。

- 本発明の蛋白質または本発明のDNAは中枢疾患(例えばアルツハイマー病・痴呆・摂食障害(拒食症)・てんかんなど)、ホルモン系の疾患(例えば、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出前後、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞など)、肝/胆/脾/内分泌疾患(例えば糖尿病・摂食障害など)、炎症性疾患(アレルギー・喘息・リュウマチなど)、循環器疾患(例えば高血圧症・心肥大・狭心症・動脈硬化等)の予防および/または治療に有用である。
20

- 25 本発明の蛋白質を上記予防・治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、本発明の蛋白質をコードするDNA(以下、本発明のDNAと略記する場合がある)を上記予防・治療剤として使用する場合は、本発明のDNAを

単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエートドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。本発明のDNAは、そのまま、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテル
5 のようなカテーテルによって投与できる。

例えば、①本発明の蛋白質または②該蛋白質をコードするDNAは、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例え
10 ば、①本発明の蛋白質または②該蛋白質をコードするDNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような
20 香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、
25 ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベ-

ト 80TM、HCO-50)などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

- 10 このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 15 本発明の蛋白質またはDNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（60kgとして）の拒食症患者においては、一日につき約0.1mg～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人（60kgとして）の拒食症患者においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは
- 20 約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当りに換算した量を投与することができる。

（3）遺伝子診断剤

- 25 本発明のDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）における本発明の蛋白質またはその部分ペプチドをコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRN

Aの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

本発明のDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics）, 第5巻, 874～879頁（1989年）、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシイズ・オブ・ユーエスエー（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）, 第86巻, 2766～2770頁（1989年））などにより実施することができる。

（4）本発明の蛋白質に対するリガンドの定量法

10 本発明の蛋白質等は、リガンドに対して結合性を有しているので、生体内におけるリガンド濃度を感度良く定量することができる。

本発明の定量法は、例えば、競合法と組み合わせることによって用いることができる。すなわち、被検体を本発明の蛋白質等と接触させることによって被検体中のリガンド濃度を測定することができる。具体的には、例えば、以下の

15 ①または②などに記載の方法あるいはそれに準じる方法に従って用いることができる。

①入江寛編「ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和49年発行）

②入江寛編「続ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和54年発行）

（5）本発明の蛋白質とリガンドとの結合性を变化させる化合物のスクリーニング方法

20

本発明の蛋白質等を用いるか、または組換え型蛋白質等の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を变化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングすることができる。

25

このような化合物には、（イ）G蛋白質共役型レセプターを介して細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜

電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性などを有する化合物（いわゆる、本発明の蛋白質に対するアゴニスト）、（ロ）該細胞刺激活性を有しない化合物（いわゆる、本発明の蛋白質に対するアンタゴニスト）、（ハ）リガンドと本発明の蛋白質との結合力を増強する化合物、あるいは（ニ）リガンドと本発明の蛋白質との結合力を減少させる化合物などが含まれる（なお、上記（イ）の化合物は、前記したリガンド決定方法によってスクリーニングすることが好ましい）。

すなわち、本発明は、（i）本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩と、リガンドとを接触させた場合と（ii）本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩と、リガンドおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法においては、（i）と（ii）の場合における、例えば、該蛋白質等に対するリガンドの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

より具体的には、本発明は、

①標識したリガンドを、本発明の蛋白質等に接触させた場合と、標識したリガンドおよび試験化合物を本発明の蛋白質等に接触させた場合における、標識したリガンドの該蛋白質等に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

②標識したリガンドを、本発明の蛋白質等を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合と、標識したリガンドおよび試験化合物を本発明の蛋白質等を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識したリガンドの該細胞または該膜画分に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

③標識したリガンドを、本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した蛋白質等に接触させた場合と、標識したリガンドおよび試験化合物を本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明の蛋白質等に接触させた場合における、標識したリガンドの該蛋白質等に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

④本発明の蛋白質等を活性化する化合物（例えば、本発明の蛋白質等に対するリガンドなど）を本発明の蛋白質等を含有する細胞に接触させた場合と、本発明の蛋白質等を活性化する化合物および試験化合物を本発明の蛋白質等を含有する細胞に接触させた場合における、レセプターを介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、および

⑤本発明の蛋白質等を活性化する化合物（例えば、本発明の蛋白質等に対するリガンドなど）を本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明の蛋白質等に接触させた場合と、本発明の蛋白質等を活性化する化合物および試験化合物を本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明の蛋白質等に接触させた場合における、レセプターを介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とするリガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

本発明の蛋白質等が得られる以前は、G蛋白質共役型レセプターアゴニストまたはアンタゴニストをスクリーニングする場合、まずラットなどのG蛋白質共役型レセプター蛋白質を含む細胞、組織またはその細胞膜画分を用いて候補化合物を得て（一次スクリーニング）、その後該候補化合物が実際にヒトの

5 G蛋白質共役型レセプター蛋白質とリガンドとの結合を阻害するか否かを確認する試験（二次スクリーニング）が必要であった。細胞、組織または細胞膜画分をそのまま用いれば他のレセプター蛋白質も混在するために、目的とするレセプター蛋白質に対するアゴニストまたはアンタゴニストを実際にスクリーニングすることは困難であった。

10 しかしながら、例えば、本発明のヒト由来蛋白質を用いることによって、一次スクリーニングの必要がなくなり、リガンドとG蛋白質共役型レセプター蛋白質との結合を阻害する化合物を効率良くスクリーニングすることができる。さらに、スクリーニングされた化合物がアゴニストかアンタゴニストかを簡便に評価することができる。

15 本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いる本発明の蛋白質等としては、前記した本発明の蛋白質等を含有するものであれば何れのものであってもよいが、本発明の蛋白質等を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用

20 いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のレセプター蛋白質等などが適している。

本発明の蛋白質等を製造するには、前述の方法が用いられるが、本発明のDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必

25 ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。本発明の蛋白質をコードするDNA断片を宿主動物細胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス（nuclear polyhedrosis virus ; N

PV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 267巻, 19555 ~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行なうことができる。

したがって、本発明のスクリーニング方法において、本発明の蛋白質等を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製した蛋白質等であってもよいし、該蛋白質等を含有する細胞を用いてもよく、また該蛋白質等を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

本発明のスクリーニング方法において、本発明の蛋白質等を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

本発明の蛋白質等を含有する細胞としては、該蛋白質等を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のよる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500 rpm ~ 3000 rpm) で短時間 (通常、約1分 ~ 10分) 遠心し、上清をさらに高速 (15000 rpm ~ 30000 rpm) で通常30分 ~ 2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現した蛋白質等と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

該蛋白質等を含有する細胞や膜画分中の該蛋白質の量は、1細胞当たり
10³～10⁸分子であるのが好ましく、10⁵～10⁷分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのリガンド結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物をスクリーニングする前記の①～③を実施するためには、例えば、適当な蛋白質画分と、標識したリガンドが必要である。

蛋白質画分としては、天然型のレセプター蛋白質画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型レセプター蛋白質画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

標識したリガンドとしては、標識したリガンド、標識したリガンドアナログ化合物などが用いられる。例えば [³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S]などで標識されたりガンドなどが用いられる。

具体的には、リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まず本発明の蛋白質等を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することにより蛋白質標品を調製する。バッファーには、pH 4～10（望ましくはpH 6～8）のリン酸バッファー、トリス塩酸バッファーなどのリガンドと蛋白質との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80TM（花王-アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるレセプターやリガンドの分解を抑える目的でPMSF、ロイペプチン、E-64（ペプチド研究所製）、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01ml～10mlの該レセプター溶液に、一定量（5000cpm～500000cpm）の標識したリガンドを添加し、同時に10⁻⁴M～10⁻¹⁰Mの試験化合物を共存させる。非特異的結合量（NSB）を知るために大過剰の未標識のリガンドを加えた反

応チューブも用意する。反応は約0℃から50℃、望ましくは約4℃から37℃で、約20分から24時間、望ましくは約30分から3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはγ-カウンター
5 で計測する。拮抗する物質がない場合のカウント(B_0)から非特異的結合量(NSB)を引いたカウント($B_0 - NSB$)を100%とした時、特異的結合量($B - NSB$)が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物スクリーニング
10 する前記の④～⑤の方法を実施するためには、例えば、蛋白質を介する細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など)を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。
15

具体的には、まず、本発明の蛋白質等を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、
20 生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質(例えば、アラキドン酸など)の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として
25 検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当な蛋白質を発現した細胞が必要である。本発明の蛋白質等を発現した細胞としては、天然型の本発明の蛋白質等を有する細胞株、前述の組換え型蛋白質等を発現した細胞株

などが望ましい。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、本発明の蛋白質等、本発明の蛋白質等を含有する細胞、または本発明の蛋白質等を含有する細胞の膜画分を含有するものなどである。

10 本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

①測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

15 孔径0.45 μ mのフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

②G蛋白質共役型レセプター標品

本発明の蛋白質を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに 5×10^5 個/穴で継代し、37℃、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

20 ③標識リガンド

市販の [³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S] などで標識したリガンド 水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝液にて1 μ Mに希釈する。

④リガンド標準液

25 リガンドを0.1%ウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含むPBSで1mMとなるように溶解し、-20℃で保存する。

2. 測定法

①12穴組織培養用プレートにて培養した本発明の蛋白質発現CHO細胞を、

測定用緩衝液 1 ml で 2 回洗浄した後、490 μ l の測定用緩衝液を各穴に加える。

② $10^{-3} \sim 10^{-10}$ M の試験化合物溶液を 5 μ l 加えた後、標識リガンドを 5 μ l 加え、室温にて 1 時間反応させる。非特異的結合量を知るためには試験化合物の代わりに 10^{-3} M のリガンドを 5 μ l 加えておく。

③ 反応液を除去し、1 ml の洗浄用緩衝液で 3 回洗浄する。細胞に結合した標識リガンドを 0.2 N NaOH-1% SDS で溶解し、4 ml の液体シンチレーター A (和光純薬製) と混合する。

④ 液体シンチレーションカウンター (ベックマン社製) を用いて放射活性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次の式で求める。

$$\text{PMB} = [(B - \text{NSB}) / (B_0 - \text{NSB})] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

15 NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

B₀ : 最大結合量

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩は、リガンドと本発明の蛋白質等との結合性を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、(イ) G 蛋白質共役型レセプターを介して細胞刺激活性 (例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca²⁺遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など) を有する化合物 (い

20 わゆる、本発明の蛋白質に対するアゴニスト)、(ロ) 該細胞刺激活性を有しない化合物 (いわゆる、本発明の蛋白質に対するアンタゴニスト)、(ハ) リガンドと本発明の G 蛋白質共役型蛋白質との結合力を増強する化合物、あるいは (ニ) リガンドと本発明の G 蛋白質共役型蛋白質との結合力を減少させる化

25

合物である。

該化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

- 5 本発明の蛋白質等に対するアゴニストは、本発明の蛋白質等に対するリガンドが有する生理活性と同様の作用を有しているので、該リガンド活性に応じて安全で低毒性な医薬 [例えば、中枢疾患(例えばアルツハイマー病・痴呆・摂食障害(拒食症)・てんかんなど)、ホルモン系の疾患(例えば、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出前後、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞
- 10 など)、肝/胆/膵/内分泌疾患(例えば糖尿病・摂食障害など)、炎症性疾患(アレルギー・喘息・リュウマチなど)、循環器疾患(例えば高血圧症・心肥大・狭心症・動脈硬化等)の予防および/または治療剤など]として有用である。

- 本発明の蛋白質等に対するアンタゴニストは、本発明の蛋白質等に対するリガンドが有する生理活性を抑制することができるので、該リガンド活性を抑制
- 15 する安全で低毒性な医薬[例えば、ホルモン分泌調節薬、本発明の蛋白質等に対するリガンドの過剰な産生によって惹起される中枢疾患、ホルモン系の疾患、肝/胆/膵/内分泌疾患(例えば抗肥満薬・摂食過剰など)、炎症性疾患、循環器疾患の予防および/または治療薬など]として有用である。

- リガンドと本発明の蛋白質との結合力を減少させる化合物は、本発明の蛋白質
- 20 等に対するリガンドが有する生理活性を減少させるための安全で低毒性な医薬[例えば、ホルモン分泌調節薬、本発明の蛋白質等に対するリガンドの過剰な産生によって惹起される中枢疾患、ホルモン系の疾患、肝/胆/膵/内分泌疾患(例えば抗肥満薬・摂食過剰など)、炎症性疾患、循環器疾患の予防および/または治療薬など]として有用である。

- 25 本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩を上述の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って実施することができる。例えば、前記した本発明の蛋白質を含有する医薬と同様にして、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌

性溶液、懸濁液剤などとすることができる。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 5 該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（60 kgとして）においては、一日につき約0.1～100 mg、好ましくは約1.0～50 mg、より好ましくは約1.0～20 mgである。非経口的に投与する場合は、その
- 10 1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～20 mg程度、より好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kgあたりに換算した量を投与することができる。

（6）本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の定量

- 15 本発明の抗体は、本発明の蛋白質等を特異的に認識することができるので、被検液中の本発明の蛋白質等の定量、特にサンドイッチ免疫測定法による定量などに使用することができる。すなわち、本発明は、例えば、（i）本発明の抗体と、被検液および標識化蛋白質等とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化蛋白質等の割合を測定することを特徴とする被検液中の本発明の蛋白質等の定量法、
- 20 （ii）被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の本発明の蛋白質等の定量法を提供する。

- 上記（ii）においては、一方の抗体が本発明の蛋白質等のN端部を認識する
- 25 抗体で、他方の抗体が本発明の蛋白質等のC端部に反応する抗体であることが好ましい。

本発明の蛋白質等に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体と称する場合がある）を用いて本発明の蛋白質等の測定を行なえるほ

か、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子の $F(ab')_2$ 、 Fab' 、あるいは Fab 画分を用いてもよい。本発明の蛋白質等に対する抗体を用いる測定法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量（例えば、蛋白質量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}I]$ 、 $[^{131}I]$ 、 $[^3H]$ 、 $[^{14}C]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。

抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常、蛋白質あるいは酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、例えば、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等が用いられる。

サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（１次反応）、さらに標識化した本発明のモノクローナル抗体を反応させ（２次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することによ

り被検液中の本発明の蛋白質量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行なっても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は前記のそれらに準じることができる。

- 5 また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。

本発明のサンドイッチ法による本発明の蛋白質等の測定法においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体は本発明の蛋白質等の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。即ち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、本発明の蛋白質のC端部を認識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

- 15 本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原と(F)と抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B、Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを
- 20 用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

- イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させたのち、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。
- 25 また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果、

生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

これら個々の免疫学的測定法を本発明の測定方法に適用するにあたっては、

- 5 特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えて本発明の蛋白質またはその塩の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる〔例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(医学書院、昭和53年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第2版)(医学書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「メソッズ・イン・エンジモロジー (Methods in ENZYMOLOGY)」Vol. 70(Immunochemical Techniques(Part A))、同書 Vol. 15 73(Immunochemical Techniques(Part B)); 同書 Vol. 74(Immunochemical Techniques(Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques(Part D:Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques(Part E:Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121(Immunochemical Techniques(Part I:Hybridoma Technology and Monoclonal 20 Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)など参照]。

以上のように、本発明の抗体を用いることによって、本発明の蛋白質またはその塩を感度良く定量することができる。さらに、本発明の抗体を用いて本発明の蛋白質またはその塩を定量することによって、各種疾病の診断をすることができる。

- 25 また、本発明の抗体は、体液や組織などの被検体中に存在する本発明の蛋白質等を検出するために使用することができる。また、本発明の蛋白質等を精製するために使用する抗体カラムの作製、精製時の各分画中の本発明の蛋白質等の検出、被検細胞内における本発明の蛋白質の挙動の分析などのために使用す

ることができる。

(7) 本発明のG蛋白質共役型蛋白質をコードするDNAを有する非ヒト動物の作製

5 本発明のDNAを用いて、本発明の蛋白質等を発現するトランスジェニック非ヒト動物を作製することができる。非ヒト動物としては、哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）など（以下、動物と略記する）が挙げられるが、特に、マウス、ウサギなどが好適である。

10 本発明のDNAを対象動物に転移させるにあたっては、該DNAを動物細胞で発現させうるプロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトとして用いるのが一般に有利である。例えば、ウサギ由来の本発明のDNAを転移させる場合、これと相同性が高い動物由来の本発明のDNAを動物細胞で発現させる各種プロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトを、例えば、ウサギ受精卵へマイクロインジェクションすることによって本発明の蛋白質等を
15 高産生するDNA転移動物を作出できる。このプロモーターとしては、例えば、ウイルス由来プロモーター、メタロチオネイン等のユビキアスな発現プロモーターも使用しうるが、好ましくは脳で特異的に発現するNGF遺伝子プロモーターやエノラーゼ遺伝子プロモーターなどが用いられる。

20 受精卵細胞段階における本発明のDNAの転移は、対象動物の胚芽細胞および体細胞の全てに存在するように確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において本発明の蛋白質等が存在することは、作出動物の子孫が全てその胚芽細胞及び体細胞の全てに本発明の蛋白質等を有することを意味する。遺伝子を受け継いだこの種の動物の子孫はその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明の蛋白質等を有する。

25 本発明のDNA転移動物は、交配により遺伝子を安定に保持することを確認して、該DNA保有動物として通常の飼育環境で飼育継代を行うことができる。さらに、目的DNAを保有する雌雄の動物を交配することにより、導入遺伝子を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得し、この雌雄の動物を交

配することによりすべての子孫が該DNAを有するように繁殖継代することができる。

本発明のDNAが転移された動物は、本発明の蛋白質等が高発現させられているので、本発明の蛋白質等に対するアゴニストまたはアンタゴニストのスクリーニング用の動物などとして有用である。

本発明のDNA転移動物を、組織培養のための細胞源として使用することもできる。例えば、本発明のDNA転移マウスの組織中のDNAもしくはRNAを直接分析するか、あるいは遺伝子により発現された本発明の蛋白質が存在する組織を分析することにより、本発明の蛋白質等について分析することができる。本発明の蛋白質等を有する組織の細胞を標準組織培養技術により培養し、これらを使用して、例えば、脳や末梢組織由来のような一般に培養困難な組織からの細胞の機能を研究することができる。また、その細胞を用いることにより、例えば、各種組織の機能を高めるような医薬の選択も可能である。また、高発現細胞株があれば、そこから、本発明の蛋白質等を単離精製することも可能である。

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA	: デオキシリボ核酸
cDNA	: 相補的デオキシリボ核酸
A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン
RNA	: リボ核酸
mRNA	: メッセンジャーリボ核酸

	dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
	dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
	dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸
	dCTP	: デオキシシチジン三リン酸
5	ATP	: アデノシン三リン酸
	EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
	SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
	Gly	: グリシン
	Ala	: アラニン
10	Val	: バリン
	Leu	: ロイシン
	Ile	: イソロイシン
	Ser	: セリン
	Thr	: スレオニン
15	Cys	: システイン
	Met	: メチオニン
	Glu	: グルタミン酸
	Asp	: アスパラギン酸
	Lys	: リジン
20	Arg	: アルギニン
	His	: ヒスチジン
	Phe	: フェニルアラニン
	Tyr	: チロシン
	Trp	: トリプトファン
25	Pro	: プロリン
	Asn	: アスパラギン
	Gln	: グルタミン
	pGlu	: ピログルタミン酸

	T o s	: p-トルエンスルフォニル
	CHO	: ホルミル
	B z l	: ベンジル
	Cl ₂ Bzl	: 2, 6-ジクロロベンジル
5	B o m	: ベンジルオキシメチル
	Z	: ベンジルオキシカルボニル
	C l - Z	: 2-クロロベンジルオキシカルボニル
	B r - Z	: 2-ブロモベンジルオキシカルボニル
	B o c	: t-ブトキシカルボニル
10	D N P	: ジニトロフェノール
	T r t	: トリチル
	B u m	: t-ブトキシメチル
	F m o c	: N-9-フルオレニルメトキシカルボニル
	H O B t	: 1-ヒドロキシベンズトリアゾール
15	H O O B t	: 3, 4-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4-オキソ- 1, 2, 3-ベンゾトリアジン
	H O N B	: 1-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシイミド
	D C C	: N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド

本明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

20 [配列番号：1]

本発明のヒト脳由来蛋白質のアミノ酸配列を示す。

[配列番号：2]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒト脳由来蛋白質をコードするDNAの塩基配列を示す（AC00）。

25 [配列番号：3]

後述の実施例1および実施例3で用いられたプライマー1の塩基配列を示す。

[配列番号：4]

後述の実施例1および実施例3で用いられたプライマー2の塩基配列を示す。

〔配列番号：5〕

後述の実施例3で用いられたフォワードプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：6〕

後述の実施例3で用いられたリバースプライマーの塩基配列を示す。

5 〔配列番号：7〕

後述の実施例3で用いられたプローブの塩基配列を示す。

後述の実施例1で得られた形質転換体エシェリヒア コリ (Escherichia coli) DH5 α / p cDNA 3.1-AC00は、平成11年8月23日から日本国茨城県つくば市東1丁目1-3の通商産業省工業技術院生命工学工業技術
10 研究所 (NIBH) に寄託番号FERM BP-6853として、平成11年8月4日から日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17-85の財団法人・発酵研究所 (IFO) に寄託番号IFO 16303として寄託されている。

以下に実施例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の
15 範囲を限定するものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モレキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従った。

実施例1 G蛋白質共役型レセプター蛋白質AC00をコードするcDNAのクローニングと塩基配列の決定

20 ヒト脳cDNA (CLONTECH社) を鋳型とし、2個のプライマー、プライマー1 (5'-TAG TCG ACA TGG CCA ACT CCA CAG GGC TGA ACG CCT CA -3'; 配列番号：3) 及びプライマー2 (5'-ATA CTA GTT CAG GAG AGA GAA CTC TCA GGT GGC CCC TG -3'; 配列番号：4) を用いてPCR反応を行った。該反応における反応液の組成は上記cDNAの10分の1量を鋳型
25 として使用し、Advantage2 Polymerase Mix (CLONTECH社) 1/50量、プライマー1及びプライマー2を各0.2 μ M, dNTPs 200 μ M、及び酵素に添付のバッファーを加え、25 μ lの液量とした。PCR反応は、95℃・1分の後、95℃・30秒、72℃・4分のサイクルを5回、95℃・30秒、70℃・

- 4分のサイクルを5回、95℃・30秒、68℃・30秒、66℃・4分のサイクルを25回繰り返し、最後に68℃・3分の伸長反応を行った。該PCR反応後の反応産物をTAクローニングキット（Invitrogen社）の処方に従いプラスミドベクターpcDNA3.1/V5/His（Invitrogen社）へサブクローニングし、
5 得られたプラスミドをpcDNA3.1-AC00と命名した。これを大腸菌DH5 α に導入し、cDNAをもつクローンをアンピシリンを含むLB寒天培地中で選択した後、個々のクローンの配列を解析した結果、新規G蛋白質共役型レセプター蛋白質をコードするcDNA配列を得た。このcDNAより導き出されるアミノ酸配列を有する蛋白質をAC00と命名し、この形質転換体は大腸菌
10 (Escherichia coli) DH5 α /pcDNA3.1-AC00と命名した。

実施例2 ノーザンブロッティングによる遺伝子の発現臓器の特異性の解析

- ノーザンブロッティングによる遺伝子の発現臓器の特異性の解析は、ヒューマン12-レーン マルチプルティッシュノーザンブロット（クローンテック社）のメンブレンフィルターを用いて行った。このメンブレンフィルターを添付のハイブリダイゼーション用緩衝液のExpress Hyb ハイブリダイゼーションソリューション中、68℃で30分プレハイブリダイゼーションを行った。一方、プローブとしては、本発明の蛋白質をコードするDNA断片を含む実施例
15 1で得たPCR産物1123残基からDNA断片を(α -32P) dCTP（アマシャム社）とBcaベストラベリングキット（宝酒造）を用いて標識した。
20 ハイブリダイゼーションは、標識プローブを含むExpress Hyb ハイブリダイゼーションソリューション中、68℃で18時間行った。

- フィルターは、2 \times SSC、0.05%SDS液中、室温で2回洗浄し、さらに、0.1 \times SSC、0.1%SDS液中、50℃で2回洗浄した。オートラジオグラムをとってプローブとハイブリダイゼーションしたバンドを調べた。
25 その結果、すべての臓器で約1.5kbのバンドが検出された。そのバンド以外にも、脳では、約2.1kbのバンド、末梢血白血球では約1.8kbのバンドが検出された（図4）。

実施例3 TaqMan PCRを用いたAC00の発現組織分布の解析

まずプライマー及びプローブは Primer Express ver.1.0 (PE バイオシステムズジャパン) を用いてデザインし、フォワードプライマー AC00taqF (5' - TAGGC CCTTC TGAGG CTCCA - 3' (配列番号: 5))、リバープライマー AC00taqR (5' - TCTCA GGTGG CCCCT GGTAT - 3' (配列番号: 6))、プローブ AC00-1037T (5' - AACAG ACCCC CGAGT TGGCA G - 3' (配列番号: 7)) を作製した。プローブのリポーター色素は FAM (6-carboxyfluorescein) を付加した。

- 10 スタンダード cDNA は、pcDNA3.1-AC00 を鋳型にしてプライマー 1 (配列番号: 3)、プライマー 2 (配列番号: 4) を用いて増幅した PCR 断片を QIAquick PCR Purification Kit [QIAGEN (Germany)] にて精製し、 $10^0 - 10^6$ コピー / μ l に調製して用いた。

各組織の cDNA ソースは Human Tissue cDNA Panel I 及び Panel II

- 15 [CLONTECH Laboratories, Inc. (CA, USA)] を用いた。

TaqMan PCR は、TaqMan Universal PCR Master Mix (PE バイオシステムズジャパン) の試薬を用い、ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (PE バイオシステムズジャパン) にて、添付の説明書に従い反応させた。

結果を図5および表1に示した。AC00は脳に高い発現が見られた。

表 1

Tissue	Expression (copies/ μ l)
brain	723
heart	11
kidney	12
liver	17
lung	2
pancreas	7
placenta	3
skeletal muscle	6
colon	4
ovary	1
leukocyte	22
prostate	27
small intestine	7
spleen	14
testis	15
thymus	3

産業上の利用可能性

- 本発明の蛋白質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、およびそれらをコードするDNAは、①リガンド（アゴニスト）の決定、②抗体および抗血清の入手、③組み替え型蛋白質の発現系の構築、④同発現系を用いたレセプター結合アッセイ系の開発と医薬品候補化合物のスクリーニング、⑤構造的に類似したリガンド・レセプターとの比較にもとづいたドラッグデザインの実施、⑥遺伝子診断におけるプローブやPCRプライマーの作成のための試薬、⑦トランスジェニック動物の作製または⑧遺伝子予防・治療剤等の医薬等として用いることができる。

請求の範囲

1. 配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有することを特徴とする蛋白質またはその塩。
- 5 2. 請求項1記載の蛋白質の部分ペプチドまたはその塩。
3. 請求項1記載の蛋白質をコードするDNAを含有するDNA。
4. 配列番号：2で表される塩基配列を有する請求項3記載のDNA。
5. 請求項3記載のDNAを含有する組換えベクター。
6. 請求項5記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。
- 10 7. 請求項6記載の形質転換体を培養し、請求項1記載の蛋白質を生成・蓄積せしめることを特徴とする請求項1記載の蛋白質またはその塩の製造法。
8. 請求項1記載の蛋白質もしくは請求項2記載の部分ペプチドまたはその塩に対する抗体。
9. 請求項1記載の蛋白質もしくは請求項2記載の部分ペプチドまたはその塩
15 を用いることを特徴とする請求項1記載の蛋白質またはその塩に対するリガンドの決定方法。
10. 請求項1記載の蛋白質もしくは請求項2記載の部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とするリガンドと請求項1記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。
- 20 11. 請求項1記載の蛋白質もしくは請求項2記載の部分ペプチドまたはその塩を含有することを特徴とするリガンドと請求項1記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット。
12. 請求項10記載のスクリーニング方法または請求項11記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、リガンドと請求項1記載の蛋白質または
25 その塩との結合性を変化させる化合物またはその塩。
13. 請求項10記載のスクリーニング方法または請求項11記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、リガンドと請求項1記載の蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

14. 請求項3記載のDNAとハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

[illegible]

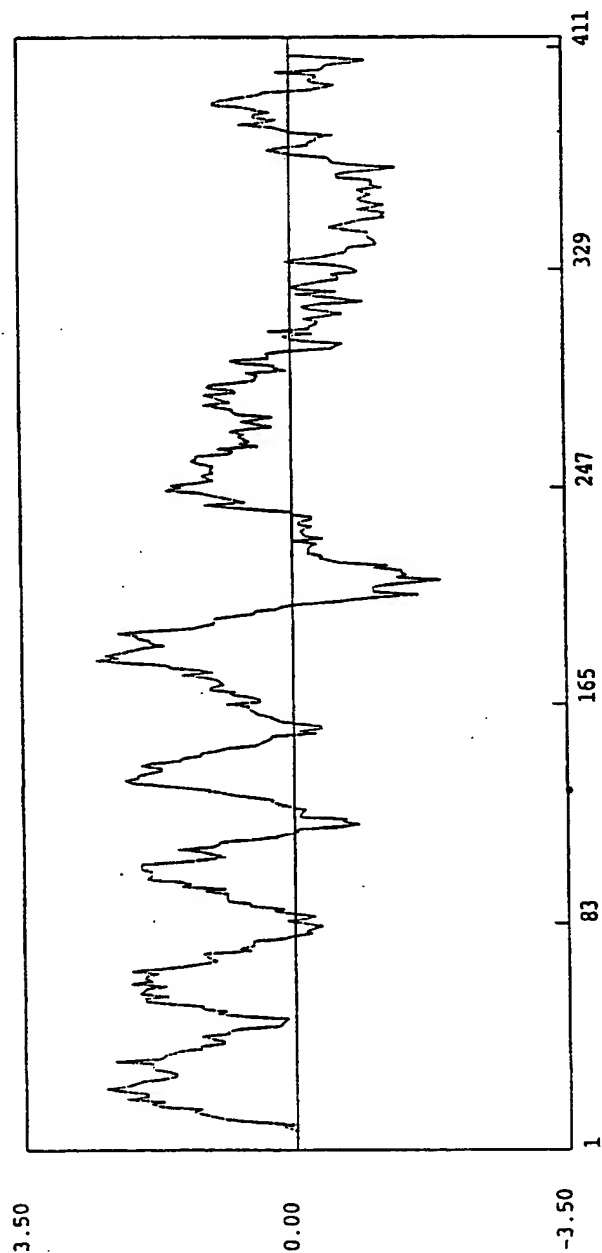


[illegible]

3/5



3

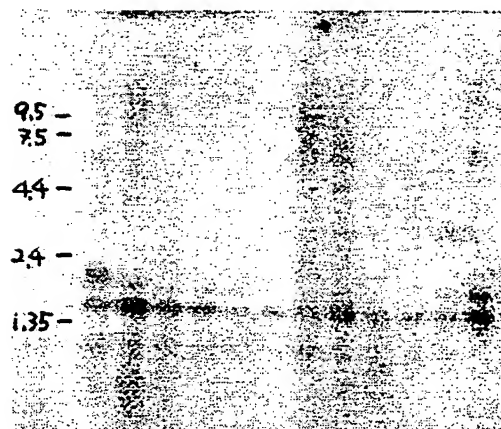




4/5

☒ 4

(kb) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

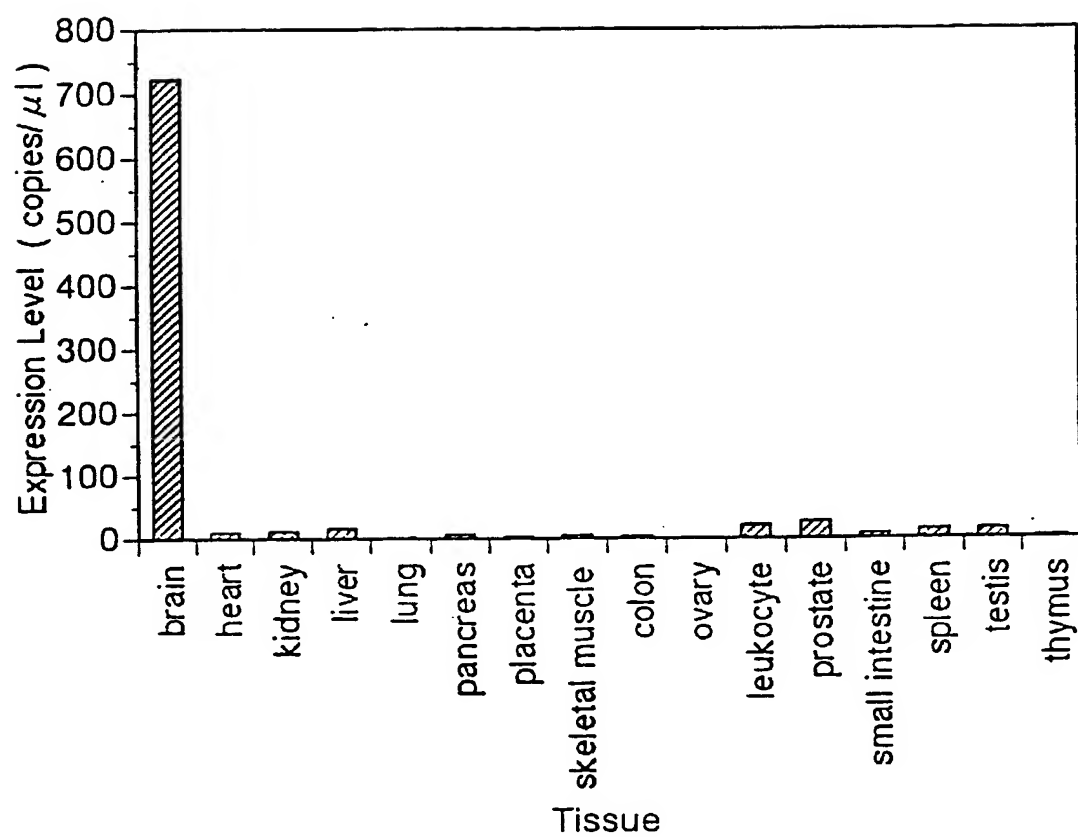




5/5



5





1/5

SEQUENCE LISTINGS

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel G Protein Coupled Receptor Protein and Its Use

<130> 2632W00P

<150> JP 11-241529

<151> 1999-08-27

<160> 7

<210> 1

<211> 368

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Met Ala Asn Ser Thr Gly Leu Asn Ala Ser Glu Val Ala Gly Ser Leu

1 5 10 15

Gly Leu Ile Leu Ala Ala Val Val Glu Val Gly Ala Leu Leu Gly Asn

20 25 30

Gly Ala Leu Leu Val Val Val Leu Arg Thr Pro Gly Leu Arg Asp Ala

35 40 45

Leu Tyr Leu Ala His Leu Cys Val Val Asp Leu Leu Ala Ala Ala Ser

50 55 60

Ile Met Pro Leu Gly Leu Leu Ala Ala Pro Pro Pro Gly Leu Gly Arg

65 70 75 80

Val Arg Leu Gly Pro Ala Pro Cys Arg Ala Ala Arg Phe Leu Ser Ala

85 90 95

Ala Leu Leu Pro Ala Cys Thr Leu Gly Val Ala Ala Leu Gly Leu Ala

100 105 110

Arg Tyr Arg Leu Ile Val His Pro Leu Arg Pro Gly Ser Arg Pro Pro



2/5

115	120	125	
Pro Val Leu Val Leu Thr Ala Val Trp Ala Ala Ala Gly Leu Leu Gly			
130	135	140	
Ala Leu Ser Leu Leu Gly Pro Pro Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro Ala			
145	150	155	160
Arg Cys Ser Val Leu Ala Gly Gly Leu Gly Pro Phe Arg Pro Leu Trp			
165	170	175	
Ala Leu Leu Ala Phe Ala Leu Pro Ala Leu Leu Leu Leu Gly Ala Tyr			
180	185	190	
Gly Gly Ile Phe Val Val Ala Arg Arg Ala Ala Leu Arg Pro Pro Arg			
195	200	205	
Pro Ala Arg Gly Ser Arg Leu Arg Ser Asp Ser Leu Asp Ser Arg Leu			
210	215	220	
Ser Ile Leu Pro Pro Leu Arg Pro Arg Leu Pro Gly Gly Lys Ala Ala			
225	230	235	240
Leu Ala Pro Ala Leu Ala Val Gly Gln Phe Ala Ala Cys Trp Leu Pro			
245	250	255	
Tyr Gly Cys Ala Cys Leu Ala Pro Ala Ala Arg Ala Ala Glu Ala Glu			
260	265	270	
Ala Ala Val Thr Trp Val Ala Tyr Ser Ala Phe Ala Ala His Pro Phe			
275	280	285	
Leu Tyr Gly Leu Leu Gln Arg Pro Val Arg Leu Ala Leu Gly Arg Leu			
290	295	300	
Ser Arg Arg Ala Leu Pro Gly Pro Val Arg Ala Cys Thr Pro Gln Ala			
305	310	315	320
Trp His Pro Arg Ala Leu Leu Gln Cys Leu Gln Arg Pro Pro Glu Gly			
325	330	335	
Pro Ala Val Gly Pro Ser Glu Ala Pro Glu Gln Thr Pro Glu Leu Ala			



3/5

340

345

350

Gly Gly Arg Ser Pro Ala Tyr Gln Gly Pro Pro Glu Ser Ser Leu Ser

355

360

365

<210> 2

<211> 1104

<212> DNA

<213> Human

<400> 2

ATGGCCAACCT CCACAGGGCT GAACGCCTCA GAAGTCGCAG GCTCGTTGGG GTTGATCCTG 60
GCAGCTGTCG TGGAGGTGGG GGCAGTGTCT GGCAACGGCG CGCTGCTGGT CGTGGTGCTG 120
CGCAGGCCCG GACTGCGCGA CGCGCTCTAC CTGGCGCACC TGTGCGTCGT GGACCTGCTG 180
GCGGCCCGCT CCATCATGCC GCTGGGCCTG CTGGCCGCAC CGCCGCCCGG GCTGGGCCGC 240
GTGCGCCTGG GCGCCGCGCC ATGCCGCGCC GCTCGCTTCC TCTCCGCCGC TCTGCTGCCG 300
GCCTGCACGC TCGGGGTGGC CGCACTTGGC CTGGCACGCT ACCGCCTCAT CGTGCACCCG 360
CTGCGGCCAG GCTCGCGGCC GCCGCCTGTG CTCGTGCTCA CCGCCGTGTG GGCCGCGGCG 420
GGACTGCTGG GCGCGCTCTC CCTGCTCGGC CCGCCGCCCG CACCGCCCCC TGCTCCTGCT 480
CGCTGCTCGG TCCTGGCTGG GGGCCTCGGG CCCTTCCGGC CGCTCTGGGC CCTGCTGGCC 540
TTCGCGCTGC CCGCCCTCCT GCTGCTCGGC GCCTACGGCG GCATCTTCGT GGTGGCGCGT 600
CGCGCTGCCC TGAGGCCCCC ACGGCCGGCG CGCGGGTCCC GACTCCGCTC GGACTCTCTG 660
GATAGCCGCC TTTCCATCTT GCCGCCGCTC CGGCCTCGCC TGCCCGGGGG CAAGGCGGCC 720
CTGGCCCCAG CGCTGGCCGT GGGCCAATTT GCAGCCTGCT GGCTGCCTTA TGGCTGCGCG 780
TGCTTGGCGC CCGCAGCGCG GGCCGCGGAA GCCGAAGCGG CTGTCACCTG GGTCGCCTAC 840
TCGGCCTTCG CGGCTCACCC CTTCTGTAC GGGCTGCTGC AGCGCCCCGT GCGCTTGGCA 900
CTGGGCCGCC TCTCTCGCCG TGAAGTGCCT GGACCTGTGC GGGCCTGCAC TCCGCAAGCC 960
TGGCACCCTG GGGCACTCTT GCAATGCCTC CAGAGACCCC CAGAGGGCCC TGCCGTAGGC 1020
CCTTCTGAGG CTCCAGAACA GACCCCGAG TTGGCAGGAG GGCGGAGCCC CGCATACCAG 1080
GGGCCACCTG AGAGTTCTCT CTCC 1104

<210> 3



4/5

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 3

TAGTCGACAT GGCCAACTCC ACAGGGCTGA ACGCCTCA 38

<210> 4

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 4

ATACTAGTTC AGGAGAGAGA ACTCTCAGGT GGCCCCTG 38

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 5

TAGGCCCTTC TGAGGCTCCA 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

5/5

<223>

<400> 6

TCTCAGGTGG CCCCTGGTAT 20

<210> 7

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 7

AACAGACCCC CGAGTTGGCA G 21





⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 05 351 A 1**

⑲ Aktenzeichen: 198 05 351.7
⑳ Anmeldetag: 11. 2. 98
㉓ Offenlegungstag: 12. 8. 99

⑤① Int. Cl.⁶:
C 07 K 16/00
C 07 K 14/435
A 61 K 48/00
C 12 N 15/11
C 07 H 21/04
C 12 N 1/00
C 12 N 5/10
C 12 Q 1/00
C 12 Q 1/68
G 01 N 33/68
G 01 N 33/566

DE 198 05 351 A 1

⑦① Anmelder:
BASF AG, 67063 Ludwigshafen, DE

⑦② Erfinder:
Kröger, Burkhard, Dr., 67117 Limburgerhof, DE;
Otterbach, Bernd, Dr., 67061 Ludwigshafen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- ⑤④ Neuer G-Protein-gekoppelter Rezeptor aus menschlichem Gehirn
⑤⑦ Neuer G-Protein gekoppelter Rezeptor aus menschlichem Gehirn, das dafür codierende Gen und seine Verwendung.

DE 198 05 351 A 1



Die vorliegende Erfindung betrifft einen neuen G-Protein-gekoppelten Rezeptor aus humanem Gehirn, dessen Gene und Verwendung.

- 5 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren stellen eine Superfamilie integraler Membranproteine dar. Familienmitglieder sind Rezeptoren für alle Typen chemischer Botenstoffe, aber auch Sensoren für Licht und Geruch. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren kommen in fast allen Organismen vor.

Die Rezeptoren sind charakterisiert durch eine Aminosäuresequenz mit 7 ausgeprägt hydrophoben Bereichen. Diese stellen höchstwahrscheinlich membranständige Domänen dar und geben der Familie ihren zweiten Namen: 7-Transmembran-Domänen Rezeptoren.

- 10 Die Liganden dieser Rezeptorfamilie sind mit biogenen Aminen (z. B. Adrenalin, Serotonin, Histamin) Peptidhormonen (z. B. Angiotensin, Endothelin, Bradykinin), Neurotransmittern (z. B. NPY, Substanz P, Opioide) und Proteinen (z. B. Chemokine, Thrombin) sehr vielfältig. Alle diese Messenger sind durch Interaktion mit G-Proteinen an der Signalübertragung in das Innere der Zelle beteiligt. Als Effektoren sind bekannt: Adenylatcyclase, Phospholipase C, Phosphodiesterase.

Die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren werden in drei Unterfamilien unterteilt: die Rhodopsin-Unterfamilie, Calcitonin-Unterfamilie und Glutamat/metabotrope-Unterfamilie.

- 20 Gegenstand der Erfindung ist ein isoliertes Protein, enthaltend die in SEQ ID NO:2 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine daraus durch Substitution, Insertion oder Deletion von einem oder mehreren Aminosäureresten erhaltliche Sequenz, wobei wenigstens noch eine der wesentlichen biologischen Eigenschaften des in SEQ ID NO:2 dargestellten Proteins erhalten bleibt.

Die wesentliche biologische Eigenschaft ist in der Aktivität als Rezeptor, insbesondere als G-Protein gekoppelter Rezeptor zu sehen.

- 25 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Proteine mit G-Protein gekoppelter Rezeptoraktivität, die ausgehend von der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz durch gezielte Veränderungen herstellbar sind. Beispielsweise können bestimmte Aminosäuren durch solche mit ähnlichen physikochemischen Eigenschaften (Raumerfüllung, Basizität) ersetzt werden. Es können aber auch ein oder mehrere Aminosäuren hinzugefügt oder entfernt werden, oder mehrere dieser Maßnahmen miteinander kombiniert werden. Die solchermaßen gegenüber der SEQ ID NO:2 veränderten Proteine besitzen wenigstens 60%, bevorzugt wenigstens 75% Homologie zu SEQ ID NO:2, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 85, 2444-2448.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Nukleinsäuresequenzen, die für die o.g. Proteine codieren, insbesondere solche mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Primärstruktur.

- 30 Die vorliegende cDNA kann durch dem Fachmann geläufige Klonierungs- und Transfektionsmethoden in verschiedenen Expressionssystemen zur Expression gebracht werden. Dies sind beispielsweise pro- oder eukaryotische Vektorsysteme, wie SV40, CMV, Baculovirus, Adenovirus; Plasmide; Phagemide, Phagen.

Dazu wird die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz üblicherweise mit genetischen Regulationselementen wie Transkriptions- und Translationssignalen funktionell verknüpft. Mit den solchermaßen hergestellten rekombinanten Nukleinsäurekonstrukten werden anschließend Wirtsorganismen transformiert.

- 40 Eine bevorzugte Ausführungsform ist die Verknüpfung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz mit einem Promotor, wobei der Promotor 5' upstream zu liegen kommt. Weitere Regulationssignale wie Terminatoren, Polyadenylierungssignale, Enhancer können in dem Nukleinsäurekonstrukt Anwendung finden.

Als Wirtszellen sind Bakterien wie *Escherichia coli*, eukaryotische Mikroorganismen wie *Saccharomyces cerevisiae*, höhere eukaryotische Zellen aus Tieren oder Pflanzen, beispielsweise Sf9 oder CHO-Zellen, geeignet.

- 45 Gewünschtenfalls kann das Genprodukt auch in transgenen Organismen wie transgenen Tieren, z. B. Mäusen, Schafen oder transgenen Pflanzen zur Expression gebracht werden.

Bei der vorliegenden Erfindung handelt es sich um eine cDNA, die für ein neues Mitglied der G-Protein-gekoppelten Rezeptorfamilie kodiert. Sequenzvergleiche zeigen Verwandtschaft mit Endothelinrezeptoren und Endothelinrezeptor-ähnlichen Sequenzen.

- 50 Die vorliegende Nukleotidsequenz wurde ursprünglich in mehreren cDNA-Bibliotheken aus humanem Gehirn und Rückenmark identifiziert. Die Analyse der Verteilung der zugehörigen mRNA in 50 verschiedenen menschlichen Geweben ergab fast ausschließliche Expression im Gehirn.

Das durch die vorliegende cDNA kodierte Polypeptid läßt sich zweifelsfrei als G-Protein-gekoppelter Rezeptor identifizieren. Die 7 Transmembran-Domänen, das Kennzeichen dieser Proteinfamilie, lassen sich leicht im Hydrophilizitäts-Plot (Kyte, J. and R.F. Doolittle, 1982, J. Mol. Biol. 157, 105-132 (1982)) finden. Die größte Verwandtschaft auf Aminosäureebene findet sich mit 52% Identität zu einem putativen Endothelinrezeptor Typ B-ähnlichen Protein humanen Ursprungs (Genbank Accession Nummer U87460, (FastA-Programm, Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 85, 2444-2448).

- 55 In besonderen Fällen kann das Genprodukt auch in transgenen Tieren, z. B. Mäusen, Schafen oder transgenen Pflanzen zur Expression gebracht werden. Ebenso ist es möglich, zellfreie Translationssysteme mit der entsprechenden RNA zu programmieren.

Darüberhinaus kann das Genprodukt auch in Form therapeutisch oder diagnostisch geeigneter Fragmente exprimiert werden. Zur Isolation des rekombinanten Proteins können Vektorsysteme oder Oligonukleotide verwendet werden, die die cDNA um bestimmte Nukleotidsequenzen verlängern und damit für veränderte Polypeptide kodieren, die einer einfacheren Reinigung dienen. Als solche "Tags" sind in der Literatur z. B. Hexa-Histidin-Anker bekannt oder Epitope, die als Antigene verschiedener Antikörper erkannt werden können (beschrieben zum Beispiel in Harlow, E. and Lane, D. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor (N.Y.) Press).

Ausgehend von der Peptidsequenz können synthetische Peptide generiert werden, die als Antigene für die Produktion von Antikörpern eingesetzt werden. Es ist auch möglich, das Polypeptid oder Bruchstücke davon zur Generierung von



Antikörpern einzusetzen.

Die Herstellung von Antikörpern ist eine dem Fachmann geläufige Tätigkeit. Mit Antikörpern sind sowohl polyklonale, monoklonale, humane oder humanisierte Antikörper oder Fragmente davon, single chain Antikörper oder auch synthetische Antikörper gemeint.

Die vorliegende cDNA bietet außerdem die Voraussetzung, die genomische Sequenz dieses neuen Serinproteasegens zu klonieren. Darunter fällt auch die dazugehörige regulatorische oder Promotorsequenz, die beispielsweise durch Sequenzierung des 5' upstream Bereiches der vorliegenden cDNA zugänglich wird. Die Sequenzinformation der cDNA ist auch die Grundlage für die Herstellung von antisense Molekülen oder Ribozymen.

Eine weitere Möglichkeit des Einsatzes der Nukleotidsequenz oder Teilen davon ist die Erzeugung transgener Tiere. Transgene Überexpression oder genetischer Knockout der Sequenzinformation in geeigneten Tiermodellen kann wertvolle weitere Informationen über die (Patho-)Physiologie der neuen Serinprotease.

In Situationen, in denen ein Mangel an dem beschriebenen Rezeptor (Protein gemäß Anspruch 1) herrscht, können mehrere Methoden zur Substituierung eingesetzt werden. Zum einen kann das Protein, natürlich oder rekombinant direkt, oder durch geeignete Maßnahmen in Form seiner kodierenden Nukleinsäure (DNA oder RNA) appliziert werden. Dazu können sowohl virale, als auch nichtvirale Vehikel zum Einsatz kommen.

Ein weiterer Weg bietet sich durch die Stimulation des endogenen, körpereigenen Genes durch geeignete Mittel. Auch der turn-over oder die Inaktivierung z. B. durch Rezeptorkinasen können blockiert werden. Schließlich können Agonisten dieses Rezeptors zum Einsatz gelangen.

In Situationen, in denen überschüssiger Rezeptor vorliegt, können verschiedene Inhibitoren eingesetzt werden. Diese Inhibition kann sowohl durch antisense Moleküle oder Ribozyme, oder Antikörper und Oligonukleotide, als auch durch niedermolekulare Verbindungen erreicht werden. Darüberhinaus kann der Rezeptor auch durch Antagonisten blockiert werden.

Weiterhin können die cDNA, die genomische DNA, der Promotor, als auch das Polypeptid, sowie Teilfragmente davon in rekombinanter oder nichtrekombinanter Form zur Ausarbeitung eines Testsystems verwendet werden. Dieses Testsystem ist geeignet, die Aktivität des Promotors oder des Proteins in Anwesenheit einer Testsubstanz zu messen. Bevorzugt handelt es sich dabei um einfache Meßmethoden (colorimetrischer, luminometrischer, fluorimetrischer, immunologischer oder radioaktiver Art,) die die schnelle Meßbarkeit einer Vielzahl von Testsubstanzen erlauben. Die beschriebenen Testsysteme erlauben die Bindung oder Agonisierung oder Antagonisierung von Testsubstanzen in Bezug zum neuen Rezeptor zu beschreiben.

Die Bestimmung von Menge, Aktivität und Verteilung des Rezeptors oder seiner zugrundeliegenden mRNA im menschlichen Körper kann zur Diagnose, Prädisposition und zum Monitoring bei bestimmten Erkrankungen dienen. Desgleichen kann die Sequenz der cDNA sowie der genomischen Sequenz zu Aussagen über genetische Ursachen und Prädispositionen bestimmter Erkrankungen herangezogen werden. Dazu können sowohl DNA/RNA-Proben, sowie unnatürliche DNA/RNA-Proben, als auch Antikörper verschiedenster Art benutzt werden. Dabei dient die beschriebene Nukleotidsequenz oder Teile davon in Form geeigneter Proben zur Aufdeckung von Punktmutationen oder Deletionen/Insertionen.

Weiterhin kann das beschriebene Protein benutzt werden, um seine natürlichen Liganden zu bestimmen und zu isolieren. So kann der Rezeptor rekombinant in Zellkultur exprimiert und sein Aktivierungszustand z. B. anhand des cAMP-Spiegels abgeleitet werden. Der cAMP-Spiegel läßt sich immunologisch oder mittels Reportertechnologie ermitteln. Damit ergibt sich auch ein diagnostisches Verfahren den Spiegel des Rezeptorliganden in Körperflüssigkeiten oder Geweben zu bestimmen.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz und das von ihr kodierte Protein können zur Entwicklung von Reagenzien, Agonisten und Antagonisten zur Diagnose und Therapie von chronischen und akuten Erkrankungen des zentralen und peripheren Nervensystems, wie Alzheimer's, Depression, Demenz, Motilitätsstörungen, Hirntumore, Schmerz, Schizophrenie, Angstzustände, Schlaganfall, Schlafstörungen, Apnoen, Husten, Psychosen, Parkinson's, Epilepsie, ALS, Drogenabhängigkeit, Lähmungen, sowie zur Cerebroprotektion und bei Erkrankungen mit nervöser Komponente, wie Obesity, Anorexie, Bulimie eingesetzt werden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:

- a) Inkubation einer biologischen Probe mit einer bekannten Menge an Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 oder einer bekannten Menge an Oligonukleotiden, die als Primer für eine Amplifikation der Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 geeignet sind,
- b) Nachweis der Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 durch spezifische Hybridisierung oder PCR-Amplifikation,
- c) Vergleich der Menge an hybridisierender Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 oder an durch PCR Amplifikation gewonnener Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 mit einem Standard.

Weiterhin umfaßt die Erfindung ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis eines Proteins gemäß Anspruch 1 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:

- a) Inkubation einer biologischen Probe mit einem Antikörper, der spezifisch gegen das Protein gemäß Anspruch 1 gerichtet ist,
- d) Nachweis des Antikörper/Antigenkomplexes,
- c) Vergleich der Mengen des Antikörper/Antigenkomplexes mit einem Standard.

Als Standard können biologische Proben wie Gewebestücke, Serum oder Blut dienen, die von gesunden Probanden entnommen wurden.



Beispiel 1

Klonierung der Rezeptor cDNA

5 Bei der Sequenzanalyse von cDNA-Klonen einer cDNA-Bibliothek aus menschlichem Gehirn wurde zunächst eine Teilsequenz identifiziert. Die Sequenz dieses Teilkloves umfaßt den Bereich zwischen Nukleotidposition 352 und 2411 in SEQ ID NO:1.

Aus einer cDNA-Bibliothek aus menschlichem Gehirn (Human Brain 5'Stretch Plus cDNA Library, # HL5018t, Fa. Clontech, Jahr 1997) wurde die Gesamtsequenz SEQ ID NO:1 mittels geschachtelter Polymerase Chain Reaktion amplifiziert. Dazu kamen folgende Oligonukleotidprimer zur Anwendung:

PCR1: mit SEQ ID NO: 3 und SEQ ID NO: 4;

PCR2: mit SEQ ID NO: 3 und SEQ ID NO: 5.

Beispiel 2

Expression des neuen Rezeptors in menschlichen Geweben

20 Die Expression des neuen Rezeptors wurde in 50 verschiedenen menschlichen Geweben mittels RNA-Dotblot-Analyse untersucht. Ein Blot der Firma Clontech (#7770-1) wurde dazu mit einer Rezeptor-Probe hybridisiert. Die Probe wurde durch in vitro Transkription der entsprechenden cDNA in Anwesenheit Digoxigenin-markierter Nukleotide hergestellt. Nach stringentem Waschen wurde das Transkript hauptsächlich in Gehirngewebe nachgewiesen.



SEQUENCE LISTING

(1) GENERAL INFORMATION:

(i) APPLICANT:

- (A) NAME: BASF Aktiengesellschaft
- (B) STREET: Carl-Bosch-Strasse 38
- (C) CITY: Ludwigshafen
- (E) COUNTRY: Bundesrepublik Deutschland
- (F) POSTAL CODE (ZIP): D-6700
- (G) TELEPHONE: 0621/6048526
- (H) TELEFAX: 0621/6043123
- (I) TELEX: 1762175170

(ii) TITLE OF INVENTION: Neuer G-Protein gekoppelter Rezeptor
aus menschlichem Gehirn

(iii) NUMBER OF SEQUENCES: 5

(iv) COMPUTER READABLE FORM:

- (A) MEDIUM TYPE: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) OPERATING SYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPO)

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 2411 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(iii) ANTI-SENSE: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

- (A) ORGANISM: Homo sapiens
- (F) TISSUE TYPE: Brain

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: 5'UTR
- (B) LOCATION: 1..19

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: CDS
- (B) LOCATION: 20..1462

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: 3'UTR

(B) LOCATION: 1463..2411

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 1:

5	GTCTCCTGCT CATCCAGCC ATG CCG TGG CTG TGG CCC CTG GCT GTC TCT CTT	52
10	Met Arg Trp Leu Trp Pro Leu Ala Val Ser Leu	
	1 5 10	
15	GCT GTG ATT TTG GCT GTG GGG CTA AGC AGG GTC TCT GGG GGT GCC CCC	100
	Ala Val Ile Leu Ala Val Gly Leu Ser Arg Val Ser Gly Gly Ala Pro	
	15 20 25	
20	CTG CAC CTG GGC AGG CAC AGA GCC GAG ACC CAG GAG CAG CAG AGC CGA	148
	Leu His Leu Gly Arg His Arg Ala Glu Thr Gln Glu Gln Ser Arg	
	30 35 40	
25	TCC AAG AGG GGC ACC GAG GAT GAG GAG GCC AAG GGC GTG CAG CAG TAT	196
	Ser Lys Arg Gly Thr Glu Asp Glu Glu Ala Lys Gly Val Gln Gln Tyr	
	45 50 55	
30	GTG CCT GAG GAG TGG GCG GAG TAC CCC CGG CCC ATT CAC CCT GCT GGC	244
	Val Pro Glu Glu Trp Ala Glu Tyr Pro Arg Pro Ile His Pro Ala Gly	
	60 65 70 75	
35	CTG CAG CCA ACC AAG CCC TTG GTG GCC ACC AGC CCT AAC CCC GAC AAG	292
	Leu Gln Pro Thr Lys Pro Leu Val Ala Thr Ser Pro Asn Pro Asp Lys	
	80 85 90	
40	GAT GGG GGC ACC CCA GAC AGT GGG CAG GAA CTG AGG GGC AAT CTG ACA	340
	Asp Gly Gly Thr Pro Asp Ser Gly Gln Glu Leu Arg Gly Asn Leu Thr	
	95 100 105	
45	GGG GCA CCA GGG CAG AGG CTA CAG ATC CAG AAC CCC CTG TAT CCG GTG	388
	Gly Ala Pro Gly Gln Arg Leu Gln Ile Gln Asn Pro Leu Tyr Pro Val	
	110 115 120	
50	ACC GAG AGC TCC TAC AGT GCC TAT GCC ATC ATG CTT CTG GCG CTG GTG	436
	Thr Glu Ser Ser Tyr Ser Ala Tyr Ala Ile Met Leu Leu Ala Leu Val	
	125 130 135	
55	GTG TTT GCG GTG GGC ATT GTG GGC AAC CTG TCG GTC ATG TGC ATC GTG	484
	Val Phe Ala Val Gly Ile Val Gly Asn Leu Ser Val Met Cys Ile Val	
	140 145 150 155	
60	TGG CAC AGC TAC TAC CTG AAG AGC GCC TGG AAC TCC ATC CTT GCC AGC	532
	Trp His Ser Tyr Tyr Leu Lys Ser Ala Trp Asn Ser Ile Leu Ala Ser	
	160 165 170	
65	CTG GCC CTC TGG GAT TTT CTG GTC CTC TTT TTC TGC CTC CCT ATT GTC	580
	Leu Ala Leu Trp Asp Phe Leu Val Leu Phe Phe Cys Leu Pro Ile Val	
	175 180 185	



ATC TTC AAC GAG ATC ACC AAG CAG AGG CTA CTG GGT GAC GTT TCT TGT	628	
Ile Phe Asn Glu Ile Thr Lys Gln Arg Leu Leu Gly Asp Val Ser Cys		
190 195 200		5
CGT GCC GTG CCC TTC ATG GAG GTC TCC TCT CTG GGA GTC ACG ACT TTC	676	
Arg Ala Val Pro Phe Met Glu Val Ser Ser Leu Gly Val Thr Thr Phe		
205 210 215		10
AGC CTC TGT GCC CTG GGC ATT GAC CGC TTC CAC GTG GCC ACC AGC ACC	724	
Ser Leu Cys Ala Leu Gly Ile Asp Arg Phe His Val Ala Thr Ser Thr		
220 225 230 235		15
CTG CCC AAG GTG AGG CCC ATC GAG CGG TGC CAA TCC ATC CTG GCC AAG	772	
Leu Pro Lys Val Arg Pro Ile Glu Arg Cys Gln Ser Ile Leu Ala Lys		
240 245 250		20
TTG GCT GTC ATC TGG GTG GGC TCC ATG ACG CTG GCT GTG CCT GAG CTC	820	
Leu Ala Val Ile Trp Val Gly Ser Met Thr Leu Ala Val Pro Glu Leu		
255 260 265		25
CTG CTG TGG CAG CTG GCA CAG GAG CCT GCC CCC ACC ATG GGC ACC CTG	868	
Leu Leu Trp Gln Leu Ala Gln Glu Pro Ala Pro Thr Met Gly Thr Leu		
270 275 280		30
GAC TCA TGC ATC ATG AAA CCC TCA GCC AGC CTG CCC GAG TCC CTG TAT	916	
Asp Ser Cys Ile Met Lys Pro Ser Ala Ser Leu Pro Glu Ser Leu Tyr		
285 290 295		35
TCA CTG GTG ATG ACC TAC CAG AAC GCC CGC ATG TGG TGG TAC TTT GGC	964	
Ser Leu Val Met Thr Tyr Gln Asn Ala Arg Met Trp Trp Tyr Phe Gly		
300 305 310 315		40
TGC TAC TTC TGC CTG CCC ATC CTC TTC ACA GTC ACC TGC CAG CTG GTG	1012	
Cys Tyr Phe Cys Leu Pro Ile Leu Phe Thr Val Thr Cys Gln Leu Val		
320 325 330		45
ACA TGG CGG GTG CGA GGC CCT CCA GGG AGG AAG TCA GAG TGC AGG GCC	1060	
Thr Trp Arg Val Arg Gly Pro Pro Gly Arg Lys Ser Glu Cys Arg Ala		
335 340 345		50
AGC AAG CAC GAG CAG TGT GAG AGC CAG CTC AAC AGC ACC GTG GTG GGC	1108	
Ser Lys His Glu Gln Cys Glu Ser Gln Leu Asn Ser Thr Val Val Gly		
350 355 360		55
CTG ACC GTG GTC TAC GCC TTC TGC ACC CTC CCA GAG AAC GTC TGC AAC	1156	
Leu Thr Val Val Tyr Ala Phe Cys Thr Leu Pro Glu Asn Val Cys Asn		
365 370 375		60
ATC GTG GTG GCC TAC CTC TCC ACC GAG CTG ACC CGC CAG ACC CTG GAC	1204	
Ile Val Val Ala Tyr Leu Ser Thr Glu Leu Thr Arg Gln Thr Leu Asp		
380 385 390 395		65



	CTC CTG GGC CTC ATC AAC CAG TTC TCC ACC TTC TTC AAG GGC GCC ATC	1252
	Leu Leu Gly Leu Ile Asn Gln Phe Ser Thr Phe Phe Lys Gly Ala Ile	
5	400 405 410	
	ACC CCA GTG CTG CTC CTT TGC ATC TGC AGG CCG CTG GGC CAG GCC TTC	1300
	Thr Pro Val Leu Leu Leu Cys Ile Cys Arg Pro Leu Gly Gln Ala Phe	
10	415 420 425	
	CTG GAC TGC TGC TGC TGC TGC TGC TGT GAG GAG TGC GGC GGG GCT TCG	1348
	Leu Asp Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Glu Glu Cys Gly Gly Ala Ser	
15	430 435 440	
	GAG GCC TCT GCT GCC AAT GGG TCG GAC AAC AAG CTC AAG ACC GAG GTG	1396
	Glu Ala Ser Ala Ala Asn Gly Ser Asp Asn Lys Leu Lys Thr Glu Val	
20	445 450 455	
	TCC TCT TCC ATC TAC TTC CAC AAG CCC AGG GAG TCA CCC CCA CTC CTG	1444
	Ser Ser Ser Ile Tyr Phe His Lys Pro Arg Glu Ser Pro Pro Leu Leu	
25	460 465 470 475	
	CCC CTG GGC ACA CCT TGC TGAGGCCCCA GTAGGGGTGG GGAGGGAGGG	1492
	Pro Leu Gly Thr Pro Cys	
30	480	
	AGAGGCCGCC ACCCCCGCCG GTGTCTGCTG TTCTTTCCCC ATAGGTCTTG CTTTGTTGCC	1552
	TGTCTTGCTG TCTAGGGATG GACTTGGTTC CTCTTGTCAA GGTTTGGGAA TGTCAAAGCC	1612
35	CCCTCCCCAC ACAGGGCCTT TCCTGTCCCT TGTGGGGCCT TCCAACCCTG TCCTTTCCAC	1672
	TGGTGGGCGG TGATGCTTCT AGGTCCTTAG AACTGCCCAG AACTCTGAG TCCCAGCAGC	1732
40	TGGGAGCCAG AACTTTGCCT GCCCTCCCTT GGTTCAGTC TCTCTTCTCT CTCTCTGCCT	1792
	TGGAACCTGA CCATACTTTA GTTGTGCCCT TCCCAGGCAT CATCCTCCTA CCACCAACCT	1852
45	GGGGCCCCAT CTTGGAATGG GGGCTCCCTG GGGCCAGCCC AGTGTGGCTC ACCACACTCT	1912
	TCTTTTTTTTT TTTTTTTTTT GAGATGGAGT CTTGCTCTGT TGCCCAGGCT GGAGTACATT	1972
50	TGCCTGATGT CAGCTCCCTG CAACCTCCGC CTCCTGGGT CAAGCGATTC TCCTGCCTCA	2032
	GCCTCCTGAG TAGCTGGGAT TACAGGTGTG CACCAACACA CCCGGCTAAT TTTTGTATTT	2092
55	GTAGAAGAGG CGGGGTTTCA CCATGTTGGC CAGGCTGGTG TTGAACTCCT GACCTCAAGT	2152
	GATCTGCCTG CCTTGGCCTC CCAAAGTGCT GGGATTACAG GTGTGAGCTG CCACGCCAG	2212
60	CCCCAGTACA CTCTTCTCTG GACCAGATCT GTCCCAGTCC TGGATGCCTC CTCCTACTGG	2272
	TGCCTTCTTT TCTTCCAGAG GATTTCTCTC TCCTTCTCC TCCTTTCTTT GGGATCCCTG	2332
65	GGTTGCCCTG TCCCAACCTC CTTGTTAGGT GCTTTCCCAT AGGAGGCCCT TCTTGAGAAA	2392
	CAATAAACTA GGTAAGACT	2411



(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 481 amino acids 5

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: protein 10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 2:

Met	Arg	Trp	Leu	Trp	Pro	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Ala	Val	Ile	Leu	Ala	15
1				5					10					15		
Val	Gly	Leu	Ser	Arg	Val	Ser	Gly	Gly	Ala	Pro	Leu	His	Leu	Gly	Arg	20
		20						25					30			
His	Arg	Ala	Glu	Thr	Gln	Glu	Gln	Gln	Ser	Arg	Ser	Lys	Arg	Gly	Thr	25
		35					40					45				
Glu	Asp	Glu	Glu	Ala	Lys	Gly	Val	Gln	Gln	Tyr	Val	Pro	Glu	Glu	Trp	
	50					55					60					
Ala	Glu	Tyr	Pro	Arg	Pro	Ile	His	Pro	Ala	Gly	Leu	Gln	Pro	Thr	Lys	30
65					70					75					80	
Pro	Leu	Val	Ala	Thr	Ser	Pro	Asn	Pro	Asp	Lys	Asp	Gly	Gly	Thr	Pro	
			85						90					95		35
Asp	Ser	Gly	Gln	Glu	Leu	Arg	Gly	Asn	Leu	Thr	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln	
			100					105					110			
Arg	Leu	Gln	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Tyr	Pro	Val	Thr	Glu	Ser	Ser	Tyr	40
		115					120					125				
Ser	Ala	Tyr	Ala	Ile	Met	Leu	Leu	Ala	Leu	Val	Val	Phe	Ala	Val	Gly	
		130				135					140					45
Ile	Val	Gly	Asn	Leu	Ser	Val	Met	Cys	Ile	Val	Trp	His	Ser	Tyr	Tyr	
145					150					155				160		
Leu	Lys	Ser	Ala	Trp	Asn	Ser	Ile	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Leu	Trp	Asp	50
				165					170					175		
Phe	Leu	Val	Leu	Phe	Phe	Cys	Leu	Pro	Ile	Val	Ile	Phe	Asn	Glu	Ile	
			180					185					190			55
Thr	Lys	Gln	Arg	Leu	Leu	Gly	Asp	Val	Ser	Cys	Arg	Ala	Val	Pro	Phe	
		195				200						205				60
Met	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Gly	Val	Thr	Thr	Phe	Ser	Leu	Cys	Ala	Leu	
		210				215					220					65



Gly Ile Asp Arg Phe His Val Ala Thr Ser Thr Leu Pro Lys Val Arg
 225 230 235 240
 5 Pro Ile Glu Arg Cys Gln Ser Ile Leu Ala Lys Leu Ala Val Ile Trp
 245 250 255
 10 Val Gly Ser Met Thr Leu Ala Val Pro Glu Leu Leu Leu Trp Gln Leu
 260 265 270
 15 Ala Gln Glu Pro Ala Pro Thr Met Gly Thr Leu Asp Ser Cys Ile Met
 275 280 285
 Lys Pro Ser Ala Ser Leu Pro Glu Ser Leu Tyr Ser Leu Val Met Thr
 290 295 300
 20 Tyr Gln Asn Ala Arg Met Trp Trp Tyr Phe Gly Cys Tyr Phe Cys Leu
 305 310 315 320
 25 Pro Ile Leu Phe Thr Val Thr Cys Gln Leu Val Thr Trp Arg Val Arg
 325 330 335
 Gly Pro Pro Gly Arg Lys Ser Glu Cys Arg Ala Ser Lys His Glu Gln
 340 345 350
 30 Cys Glu Ser Gln Leu Asn Ser Thr Val Val Gly Leu Thr Val Val Tyr
 355 360 365
 35 Ala Phe Cys Thr Leu Pro Glu Asn Val Cys Asn Ile Val Val Ala Tyr
 370 375 380
 40 Leu Ser Thr Glu Leu Thr Arg Gln Thr Leu Asp Leu Leu Gly Leu Ile
 385 390 395 400
 Asn Gln Phe Ser Thr Phe Phe Lys Gly Ala Ile Thr Pro Val Leu Leu
 405 410 415
 45 Leu Cys Ile Cys Arg Pro Leu Gly Gln Ala Phe Leu Asp Cys Cys Cys
 420 425 430
 50 Cys Cys Cys Cys Glu Glu Cys Gly Gly Ala Ser Glu Ala Ser Ala Ala
 435 440 445
 Asn Gly Ser Asp Asn Lys Leu Lys Thr Glu Val Ser Ser Ser Ile Tyr
 450 455 460
 55 Phe His Lys Pro Arg Glu Ser Pro Pro Leu Leu Pro Leu Gly Thr Pro
 465 470 475 480
 60 Cys

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 3:

65



(1) SEQUENCE CHARACTERISTICS:	
(A) LENGTH: 26 base pairs	
(B) TYPE: nucleic acid	
(C) STRANDEDNESS: single	5
(D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)	
	10
(iii) HYPOTHETICAL: NO	
(iii) ANTI-SENSE: NO	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 3:	15
CTCGGGAAGC GCGCCATTGT GTTGGT	26
(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 4:	20
(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:	
(A) LENGTH: 26 base pairs	
(B) TYPE: nucleic acid	
(C) STRANDEDNESS: single	25
(D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)	
	30
(iii) HYPOTHETICAL: NO	
(iii) ANTI-SENSE: NO	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 4:	35
GAGCCCACCC AGATGACAGC CAACTT	26
(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 5:	40
(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:	
(A) LENGTH: 26 base pairs	
(B) TYPE: nucleic acid	
(C) STRANDEDNESS: single	45
(D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)	
	50
(iii) HYPOTHETICAL: NO	
(iii) ANTI-SENSE: NO	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 5:	55
TGAAGGGCAC GGCACGACAA GAAACG	26

Patentansprüche

1. Isoliertes Protein, enthaltend die in SEQ ID NO:2 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine daraus durch Substitution, Insertion oder Deletion von einem oder mehreren Aminosäureresten erhaltliche Sequenz, wobei wenigstens noch eine der wesentlichen biologischen Eigenschaften des in SEQ ID NO:2 dargestellten Proteins erhalten bleibt. 65
2. Protein nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es sich um ein humanes Protein handelt.
3. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein nach Anspruch 1.



4. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Protein codiert, das wenigstens 60% Identität mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Sequenz hat.
5. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie die in SEQ ID NO:1 dargestellte Sequenz enthält.
- 5 6. Rekombinantes Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 3 funktionell verknüpft mit mindestens einem genetischen Regulationselement.
7. Wirtsorganismus, transformiert mit einer Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 3.
8. Wirtsorganismus, transformiert mit einem rekombinanten Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 6.
9. Verwendung eines Proteins nach Anspruch 1 als Antigen zur Erzeugung von spezifischen Antikörpern.
- 10 10. Antikörper, die spezifisch das Protein nach Anspruch 1 erkennen.
11. Verwendung einer Nukleinsäuresequenz zur Gentherapie.
12. Verwendung einer zu der Sequenz gemäß Anspruch 3 komplementären Nukleinsäuresequenz zur Gentherapie.
13. Verfahren zur Identifizierung von Antagonisten und Agonisten für das Protein gemäß Anspruch 1 indem man Zellen, die das Protein gemäß Anspruch 1 auf der Zelloberfläche tragen mit einer Vielzahl zu untersuchender Substanzen (Testsubstanzen) zusammenbringt, und anschließend die biologische Aktivität des Rezeptors in An- und Abwesenheit der Testsubstanz vergleicht.
- 15 14. Verfahren zum Testen von Substanzen hinsichtlich ihrer Eigenschaft als Ligand für das Protein gemäß Anspruch 1 zu fungieren, das folgende Schritte umfaßt:
 - a) Expression des Proteins nach Anspruch 1 in eukaryontischen Zellen,
 - 20 b) Inkubation dieser Zellen mit Proteinextrakten, bevorzugt aus Gehirngewebe stammend,
 - c) Ermittlung der Bindung der zu untersuchenden Substanz an das Protein gemäß Anspruch 1 und der Aktivierung durch Messung der cAMP Konzentration oder des Calciumflusses in der Zelle.
15. Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:
 - 25 a) Inkubation einer biologischen Probe mit einer bekannten Menge an Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 oder einer bekannten Menge an Oligonukleotiden, die als Primer für eine Amplifikation der Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 geeignet sind,
 - b) Nachweis der Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 durch spezifische Hybridisierung oder PCR-Amplifikation,
 - 30 c) Vergleich der Menge an hybridisierender Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 oder an durch PCR Amplifikation gewonnener Nukleinsäure gemäß Anspruch 3 mit einem Standard.
16. Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis eines Proteins gemäß Anspruch 1 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:
 - a) Inkubation einer biologischen Probe mit einem Antikörper, der spezifisch gegen das Protein gemäß Anspruch 1 gerichtet ist,
 - 35 b) Nachweis des Antikörper/Antigenkomplexes,
 - c) Vergleich der Mengen des Antikörper/Antigenkomplexes mit einem Standard.

